

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 24

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
COMPOSITION DU SÉRUM
DES MAMMIFÈRES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Janvier 1939

par

Jean SERVIER

Pharmacien

JURY { MM. LAUNOY, *Président.*
GORIS, *Professeur.*
RÉGNIER, *Maître de Conférences.*

LILLE
IMPRIMERIE L. DANIEL

—
1939

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 24

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
COMPOSITION DU SÉRUM
DES MAMMIFÈRES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Janvier 1939

par

Jean SERVIER

Pharmacien

JURY { MM. LAUNOY, *Président.*
GORIS, *Professeur.*
RÉGNIER, *Maître de Conférences.*

LILLE
IMPRIMERIE L. DANIEL

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.

P. LEBEAU, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I. Membre de l'Institut.

H. J. LIONNET, *Secrétaire*, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. ✱, ☉ I. Membre de l'Institut..	Pharmacie chimique.
GORIS, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I.	Chimie organique.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
DELABY, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
PICON, ✱, ☉ I.	Physique.
MASCRÉ, ☉ I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ☉ I.	Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I. — GUÉRIN, O. ✱, ☉ I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. ✱, ☉ I. et DELÉPINE, O. ✱, ☉ I., Membres de l'Institut
GUERBET, ✱, ☉ I., PERROT, C. ✱, ☉ I., COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.,
BOUGAULT, O. ✱, ☉ I. et TASSILLY, O. ✱, ☉ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

FLEURY, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
BEDÉL, ☉ I.	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceuti- ques.
RÉGNIER, ☉ I.	Parasitologie.
CHARONNAT, ☉ I.	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT.	Pharmacie galénique et biologique végétale.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, travaux pratiques de 1 ^{re} année .	Chimie générale et pharma- ceutique.
GAUTIER, ☉ I., trav. prat. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS.	Micrographie
CORRIEZ.	Physique.
VALLETTE, ☉ I.	Microbiologie.
GUILLOT, travaux pratiques de 4 ^e année.	Chimie biologique, Broma- tologie et Pharmacie chi- mique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ☉ A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAUNOY,

*Officier de la Légion d'Honneur,
Professeur à la Faculté de Pharmacie,*

qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse,
avec l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORIS,

*Officier de la Légion d'Honneur,
Professeur à la Faculté de Pharmacie,
Membre de l'Académie de Médecine,
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux,*

en témoignage de ma respectueuse reconnaissance
et de mon plus affectueux dévouement.

A MONSIEUR RÉGNIER,

*Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie,
Officier de l'Instruction Publique,
Pharmacien des Hôpitaux,*

avec l'expression de mes sentiments
très respectueusement dévoués.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ACHILLE URBAIN,
Professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle,
Directeur du Parc Zoologique du Bois de Vincennes,
Officier de la Légion d'Honneur,

en témoignage de ma profonde reconnaissance pour le précieux enseignement reçu auprès de lui et le bienveillant accueil qu'il m'a réservé dans son laboratoire.

A MONSIEUR RAYMOND CAHEN,

Docteur-ès-sciences,
Attaché au Muséum d'Histoire Naturelle,
Pharmacien-Chef de la Maison Départementale de Nanterre,
Assistant à la Faculté de Médecine,

dont la grande amabilité et les conseils éclairés nous furent d'une aide particulièrement précieuse au cours de nos travaux au Parc Zoologique.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LASSABLIÈRE,

*Chevalier de la Légion d'Honneur,
Directeur à l'Ecole des Hautes Etudes,*

en témoignage de ma respectueuse gratitude pour les
bienveillants encouragements qu'il n'a cessé de me prodiguer.

A MONSIEUR RENÉ TRUHAUT,

Pharmacien-Chef des Asiles de la Seine,

dont le bel exemple et les affectueux conseils m'ont donné
le goût de la recherche Scientifique
Avec mon plus cordial et amical dévouement.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

L'étude biochimique du sérum des *Mammifères* est à peine ébauchée. En dehors de quelques constantes physico-chimiques connues pour certains animaux domestiques ou de laboratoire, la question ne semble pas avoir été l'objet jusqu'ici de recherches systématiques.

Cependant les travaux d'Ach. URBAIN et de ses collaborateurs sur divers constituants organiques du sang des *Mammifères du Parc Zoologique*, avaient montré, pour certains éléments, des teneurs tout à fait particulières et très différentes de celles signalées pour l'homme ou les animaux domestiques. Ces résultats nous ont engagé à poursuivre l'étude physico-chimique du sérum de ces mammifères et nous l'avons fait en tenant compte des ordres zoologiques et des divers modes d'alimentation.

Nous avons limité nos investigations aux données qui nous ont paru avoir un intérêt plus spécial, soit en biologie, soit en pathologie.

Dans ce but nous avons abordé l'étude du point de congélation du sérum qui est une caractéristique physico-chimique précise. En raison du rôle joué par les phénomènes osmotiques en Biologie, la détermination du point de congélation a tenté de nombreux physiologistes (BOTAZZI, FRÉDÉRICQ, PORTIER). Leurs travaux ont porté sur quelques *Invertébrés*, mais surtout sur des *Vertébrés inférieurs*, *Mollusques*, *Batraciens* et tout particulièrement sur les *Poissons*. Les autres *Vertébrés*,

Reptiles, Oiseaux et Mammifères ont donné lieu à une étude des plus sommaire et il nous a paru intéressant de la poursuivre chez les Mammifères. Nous avons ajouté à cette recherche du point cryoscopique le dosage d'éléments qui peuvent d'ailleurs expliquer partiellement sa valeur. Si parmi ces constituants du sérum, *l'urée* avait déjà été étudiée par Ach. URBAIN, les autres, *chlore, sucres réducteurs, extrait sec* n'avaient jusque là fait l'objet d'aucun travail.

Nous donnons les résultats obtenus à titre documentaire, sans préjuger, dans l'état actuel de nos recherches, des conclusions à en tirer. Nous pensons cependant que ces statistiques inédites peuvent être utiles et apporter une légère contribution à la physiologie et à la clinique.

* * *

Les recherches exposées dans ce travail sont divisées en deux parties, Dans la première, nous parlons des conditions de prélèvement et d'obtention du sérum et nous décrivons les techniques utilisées dans la recherche. Dans la deuxième partie, nous faisons un très bref résumé des travaux sur la concentration moléculaire avant de donner les résultats expérimentaux.

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'Ethologie des Animaux Sauvages sous la bienveillante direction de M. le Professeur Ach. URBAIN.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à notre excellente camarade du Laboratoire d'Ethologie des Animaux Sauvages, M^{lle} M.-A. PASQUIER, Licenciée ès-Sciences, dont le dévouement

et l'expérience de la recherche ont considérablement facilité notre tâche.

L'aide de M^{me} MOUNEY dans la mise en œuvre des micro-dosages nous a rendu les plus grands services, et nous tenons à lui dire ici notre reconnaissance.

Nous remercions bien vivement MM. les Docteurs-Vétérinaires BULLIER et NOUVEL, Assistants de M. le Professeur URBAIN. Leur grande habileté nous a permis de mener à bien la tâche délicate et parfois dangereuse des prises de sang normal sur les animaux sauvages du Parc Zoologique.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES SUIVIES DANS CE TRAVAIL

L'étude de la concentration moléculaire ainsi que la détermination de certains éléments du sérum des *Mammifères sauvages* présentent un gros intérêt biologique et, si elles n'ont pas encore été abordées, cela provient en partie des difficultés qu'il y a, à la fois pour se procurer les animaux et le sang normal de ces animaux.

C'est pourquoi nous avons jugé utile d'envisager, dans un premier chapitre, le choix du matériel expérimental et la technique de prélèvement du sang. Dans un deuxième chapitre nous avons décrit brièvement la méthode d'obtention et de conservation du sérum soumis à l'analyse. Enfin, dans le dernier chapitre, nous avons rappelé les techniques que nous avons utilisées au cours de nos recherches.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT DU SANG

L'absence de travaux sur les constantes physico-chimiques du sang des animaux sauvages se conçoit aisément et cela pour de multiples raisons.

En premier lieu, l'extrême dissémination des espèces sur la surface du globe rend presque impossible l'investigation systématique sur un nombre suffisant d'individus; de plus les problèmes arduos posés par leur capture sans modifier la constitution de leur milieu intérieur, l'impossibilité quasi-absolue de faire dans des conditions de fortune des prélèvements non souillés sur des animaux vivants; enfin l'éloignement forcé du laboratoire et des appareils ont rendu jusqu'ici cette étude très difficile.

Nous avons essayé tout au début de nos recherches de faire des prélèvements de sang sur quelques animaux sauvages vivant en France, particulièrement sur des animaux de chasse (*léporidés, suidés, cervidés, mustélidés, etc...*). En dehors de la difficulté de leur capture, sans les blesser ou les forcer, c'est-à-dire à l'aide de pièges, il nous a été impossible d'en tirer du sang normal, car ces animaux étaient en proie à une terreur intense, avec une tachycardie considérable, accompagnée de modifications humorales certaines.

Pour établir des résultats décisifs, il importe avant tout de travailler sur un produit normal, provenant d'un animal normal, d'un âge moyen et en bonne santé.

Nous avons pu trouver toutes ces conditions réalisées au Parc Zoologique du Bois de Vincennes où les animaux vivent à l'état de semi-liberté. Leur enceinte est aménagée de telle façon qu'elle se rapproche le plus possible, comme aspect, de leur habitat d'origine. Leurs conditions de vie sont en général voisines de celles de leurs semblables dans la Nature. Leur régime alimentaire est parfaitement équilibré grâce à une bromatologie spécialement adaptée pour chaque race en se basant sur ses besoins plastiques et énergétiques et surtout sur les éléments dont elle dispose dans son aire géographique. On veille particulièrement à éviter toute carence, en fournissant une nourriture variée et riche en vitamines.

Les pensionnaires du parc sont, de plus, l'objet d'une surveillance hygiénique et médicale extrêmement attentive.

Nos expériences ont donc porté sur des animaux en parfait état physiologique. Nous avons d'ailleurs systématiquement éliminé du champ de nos recherches les cas pathologiques et les cas spéciaux (par exemple les animaux en rut, les femelles en gestation, etc...) ne désirant donner de résultats que sur des animaux normaux.

Les prélèvements de sang bien que présentant d'assez grandes difficultés ont pu être parfaitement conduits grâce à l'habileté manuelle et à l'expérience de MM. les Docteurs-Vétérinaires BULLIER et NOUVEL et de M. BARBOT, gardien-chef du Parc. Le Problème du prélèvement était toujours compliqué du fait qu'il ne fallait pas apeurer l'animal ou le fatiguer afin de ne pas risquer de modifier la teneur de son

milieu intérieur en éléments dissous. Si l'on songe que l'on opère la plupart du temps sur des animaux dangereux, on réalise l'importance d'un appareillage adéquat et d'une main-d'œuvre habile pour mener à bien la prise de sang, comme nous avons pu le faire au cours de ces deux dernières années au Parc Zoologique.

La saignée a été en général pratiquée à la veine jugulaire, plus rarement à la saphène (chez les primates). C'est donc sur du sang veineux ou plutôt sur du sérum provenant du sang veineux que nous avons fait toutes nos déterminations.

CHAPITRE II

OBTENTION ET CONSERVATION DU SÉRUM

Nous avons choisi le sérum de préférence au sang total ou au plasma pour plusieurs raisons, dont une seule suffirait, *c'est la forme la plus facile à obtenir pure et stable.*

En effet si l'on veut opérer sur du sang total on est obligé pour le conserver de l'additionner de substances anti-coagulantes. Bien que celles-ci soient à base de produits chimiques à grosse molécule (comme le liquoïde ou le moranyle) leur dissolution peut abaisser le point cryoscopique du sang. Si l'on veut opérer sur le plasma, on est obligé de centrifuger ou de défibriner assez énergiquement. Ces manœuvres mécaniques assez violentes ont souvent pour effet de lyser un certain nombre d'érythrocytes dont la fragilité est grande chez certains animaux, surtout chez les carnivores.

Le sang a toujours été recueilli aseptiquement suivant la technique de BROCC-ROUSSEU et ROUSSEL (1) dans des vases à saignée stériles.

Nous avons eu à notre disposition, dans l'enceinte même du parc, l'installation modèle du laboratoire de chimie, ainsi que son matériel moderne et parfait.

(1) D. BROCC-ROUSSEU et G. ROUSSEL. — Le Sérum Normal. Masson et C^{ie} Édit. Paris 1934.

Le vase à saignée y était immédiatement transporté et laissé 48 heures à la température d'environ 20° centigrades. Quelques heures après la saignée, on a libéré le presse-caillot. Le sérum a été prélevé au bout de 48 heures et nous avons aussitôt opéré nos mesures sur celui-ci.

De façon à obtenir des résultats comparables entre eux, nous avons toujours cherché à opérer sur des sérums de même âge. En effet, avant clarification et sur du sérum âgé on n'observe généralement pas les mêmes points cryoscopiques que sur du sérum de deux jours.

Chez les Primates nous n'avons pû prélever plus de 40 centimètres cubes de sang par saignée. Nous l'avons recueilli dans un tube à centrifuger stérile. Le lendemain après exsudation du sérum nous avons centrifugé afin d'en perdre le moins possible.

CHAPITRE III

TECHNIQUES UTILISÉES

La cryoscopie nous est apparue comme une méthode de choix pour la détermination de la concentration moléculaire. En effet, c'est un moyen d'investigation rapide, pratique, extrêmement précis et, chose importante dans notre étude, n'exigeant pas une quantité importante de liquide biologique.

Cependant nous ne pouvions nous contenter de déterminer la concentration moléculaire sans étudier en même temps quelques éléments du sérum. C'est la raison pour laquelle nous avons toujours entrepris parallèlement à la cryoscopie le dosage de l'ion chlore, le dosage de l'urée et des sucres réducteurs, complétant notre documentation par la pesée de l'extrait sec.

Nous envisageons successivement les techniques suivies pour la détermination cryoscopique et pour les différents dosages.

§ 1. — CRYOSCOPIE

L'abaissement du point de congélation est proportionnel au nombre de molécules-grammes du corps dissous dans un litre de solvant.

Cette loi, énoncée par **RAOULT**, peut être exprimée par l'équation :

$$\Delta = t_s - t_o = K \frac{c}{M}$$

où Δ représente l'abaissement cryoscopique de la

solution (différence des températures t_0 du solvant et t_s de la solution), c la concentration

$\frac{\text{poids en grammes du corps dissous}}{\text{quantité en cc. du solvant}}$, et M le poids

moléculaire du corps dissous, K est une constante caractéristique du solvant (1858 pour les solutions aqueuses titrées en gr/cc.).

Dans la formule ci-dessus, $\frac{c}{M}$ exprime tout simplement la concentration moléculaire, soit le nombre de molécules-grammes dissoutes dans un litre de solvant. Aux concentrations où on opère pratiquement en biologie les divers corps à même concentration moléculaire, dissous dans un même solvant produisent donc les mêmes abaissements. Ces abaissements ne dépendent nullement de la nature des molécules mais seulement de leur nombre.

A. — *Technique Cryoscopique*

La mesure expérimentale du point de congélation d'une solution revient à la refroidir jusqu'à ce qu'elle se congèle et à observer à ce moment la température au moyen d'un thermomètre plongeant dans le système. Avec le thermomètre que nous avons eu à notre disposition nous avons pu préciser cette température au $\frac{1}{200}^e$ de degré centigrade.

Il est indispensable de faire deux mesures avec le même dispositif, l'une sur la solution, l'autre sur le solvant, le Δ étant la différence entre le point de

congélation de la solution et le point de congélation du solvant.

Schématiquement le matériel pour faire une mesure cryoscopique se compose ainsi :

Un tube dit « tube-laboratoire » où on place la solution à examiner. Pour que cette solution se congèle d'une façon homogène, ce tube-laboratoire est placé à l'intérieur d'un autre tube plus large, ce qui laisse un manchon d'air entre les deux parois. Ce tube, dit « tube-atmosphère » est placé à l'intérieur du récipient qui contient le mélange réfrigérant. Le réservoir du thermomètre cryoscopique doit baigner complètement dans la solution à examiner, sans toucher les parois ni le fond du tube-laboratoire. Un agitateur circule librement autour du réservoir du thermomètre de façon à homogénéiser la solution. Le tube-laboratoire est bouché pour éviter tout échange avec l'atmosphère. L'ensemble est complété par un thermomètre-alcool ($-30 + 30$) plongeant dans le mélange réfrigérant pour donner des indications sur sa température, qui éventuellement peut servir à la correction des résultats.

Lorsque l'appareil est en marche, on assiste à une descente rapide de la colonne de mercure dans le thermomètre. La théorie prévoit qu'on doit avoir une température uniforme pendant toute la durée de la congélation ou plus généralement pendant le changement de phase du système, c'est-à-dire depuis le moment où la 2^e phase apparaît dans la 1^{re} jusqu'à ce que tout soit transformé en cette 2^e phase. Quand le changement d'état est réalisé le thermomètre descend

lentement jusqu'à atteindre sensiblement la température du réfrigérant.

En réalité cette forme théorique (Fig. 1) est rarement atteinte par suite du phénomène de surfusion (Fig. 2). Nos mesures du point cryoscopique ont été obtenues à l'aide de courbes analogues à la courbe II (avec surfusion). (Voir courbes, pages: 52-53.

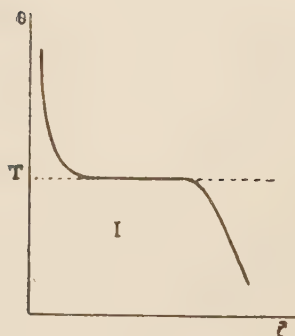


Fig. 1

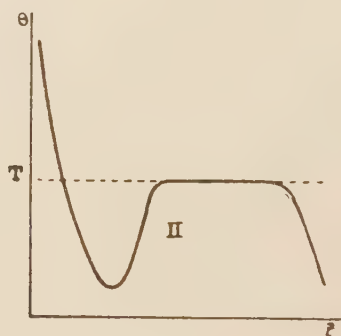


Fig. 2

Après plusieurs essais de mélanges réfrigérants divers, nous nous sommes arrêtés aux proportions suivantes :

{ glace très finement pilée : 85 %
{ sel marin — en poids : 15 %

Ce réfrigérant amenait notre tube-atmosphère à une température d'environ -7° centigrades, température qui nous a semblé optima dans notre cas pour avoir une mesure assez précise et d'une durée normale (20 minutes en moyenne). De plus ce mélange n'était pas trop rapidement fondu et n'exigeait pendant

l'opération qu'une faible recharge pour que le récipient soit plein.

Nous avons essayé d'autres modes de réfrigération : vaporisation de liquides organiques, solutions de neige carbonique, réfrigérants liquides à base de morceaux de glace en fusion dans un bain d'eau salée, sels autres que le chlorure de sodium, mais aucun de ceux-ci ne nous a donné d'aussi bons résultats que le mélange indiqué ci-dessus.

Puisque nous n'avions pas intérêt à utiliser un mélange autre que le mélange glace et sel, nous avons éliminé l'emploi des cryoscopes dont le système de réfrigération est fourni par l'évaporation d'un liquide volatil tels les cryoscopes à éther de CLAUDE et BALTHAZAR et ceux à sulfure de carbone de RAOULT ou de LAPICQUE. Le cryoscope de BECKMANN dont le dispositif est le même que celui du cryoscope schématique que nous avons décrit plus haut ne nous a pas paru d'une utilisation pratique dans notre cas. Rappelons que ce cryoscope a été perfectionné par un siphon qui enlève le liquide de fusion du réfrigérant et par un dispositif qui met en communication le tubelaboratoire et un dessicateur de façon à arrêter l'humidité de l'air lorsqu'on opère dans un solvant non aqueux.

Puisque le système à étudier était liquide nous n'avions nullement besoin d'un dessicateur et la vidange de l'eau de fusion du réfrigérant pouvait se faire autrement que par un siphon. Nous avons donc fait construire un appareil et nous allons en donner la description.

B. — *Description du Cryoscope*

L'appareil classique que nous avons employé au début (Fig. 3) ne nous donnait pas entièrement satisfaction pour plusieurs raisons. Aussi après d'assez nombreux tâtonnements avons-nous mis au point un appareil qui nous a fourni des résultats absolument constants avec un emploi plus pratique.

L'appareil que nous avons réalisé (Fig. 4) est caractérisé par les particularités suivantes :

1^o *La cuve en verre Pyrex*

Dimensions : Hauteur 18 cm.

Diamètre 16 cm. 5.

Elle est munie en bas d'un ajutage muni d'un caoutchouc pouvant être fermé par une pince de Mohr. Ce dispositif permet l'évacuation de l'eau formée par la fusion de la glace du mélange réfrigérant au fur et à mesure de sa formation. La cuve n'est pas fermée sur le dessus, afin de permettre, pendant l'expérience, l'apport de mélange glace-sel sans avoir à toucher au dispositif central.

Pour suspendre le dispositif central, celui-ci est muni, à la partie supérieure du tube-atmosphère, d'un collier métallique réuni par quatre pattes métalliques au bord supérieur de la cuve.

2^o *Le dispositif central se compose (Fig. 5) :*

a) *A l'extérieur* d'un tube-atmosphère en Pyrex de 16 cm. de hauteur sur 5 cm. de diamètre.

b) Dans ce tube-atmosphère plonge le tube-laboratoire en Pyrex. Ce dernier, d'une hauteur totale de 15 cm. 5 se compose de deux parties cylindriques, raccordées par un épaulement. Celle du haut mesure 8 cm. de hauteur sur un diamètre de 3 cm., celle du bas d'une hauteur de 7 cm. 5 sur un diamètre de 1 cm. 7 se termine par un fond rond.

Ce tube-laboratoire est appuyé sur le haut du tube-atmosphère à l'aide d'un anneau de liège qui sert également à maintenir ce dernier étanche.

Le tube-laboratoire est fermé à sa partie supérieure par un bouchon de liège percé de deux trous dont l'un laisse passer la queue de l'agitateur et dont l'autre maintient à frottement dur la tige du thermomètre cryoscopique.

L'avantage de cet ensemble est de pouvoir utiliser à la partie supérieure un bouchon de forte taille qui laisse passer aisément l'agitateur et le thermomètre et de n'avoir à la partie inférieure, où se trouve le liquide à cryoscooper, qu'une capacité assez faible (8 cc. environ).

Le bouchon de liège, à la partie supérieure, permet de maintenir le thermomètre sans le suspendre, et par conséquent d'obtenir un centrage précis de sa cuve dans le tube-laboratoire. (Un repaire sur sa tige, ainsi qu'un repaire sur le bouchon permettait de mettre le système bouchon-thermomètre toujours au même niveau dans le tube-laboratoire).

Il permet aussi lorsque l'appareil est au repos de conserver le thermomètre cryoscopique toujours vertical, ce qu'il faut rigoureusement observer car le

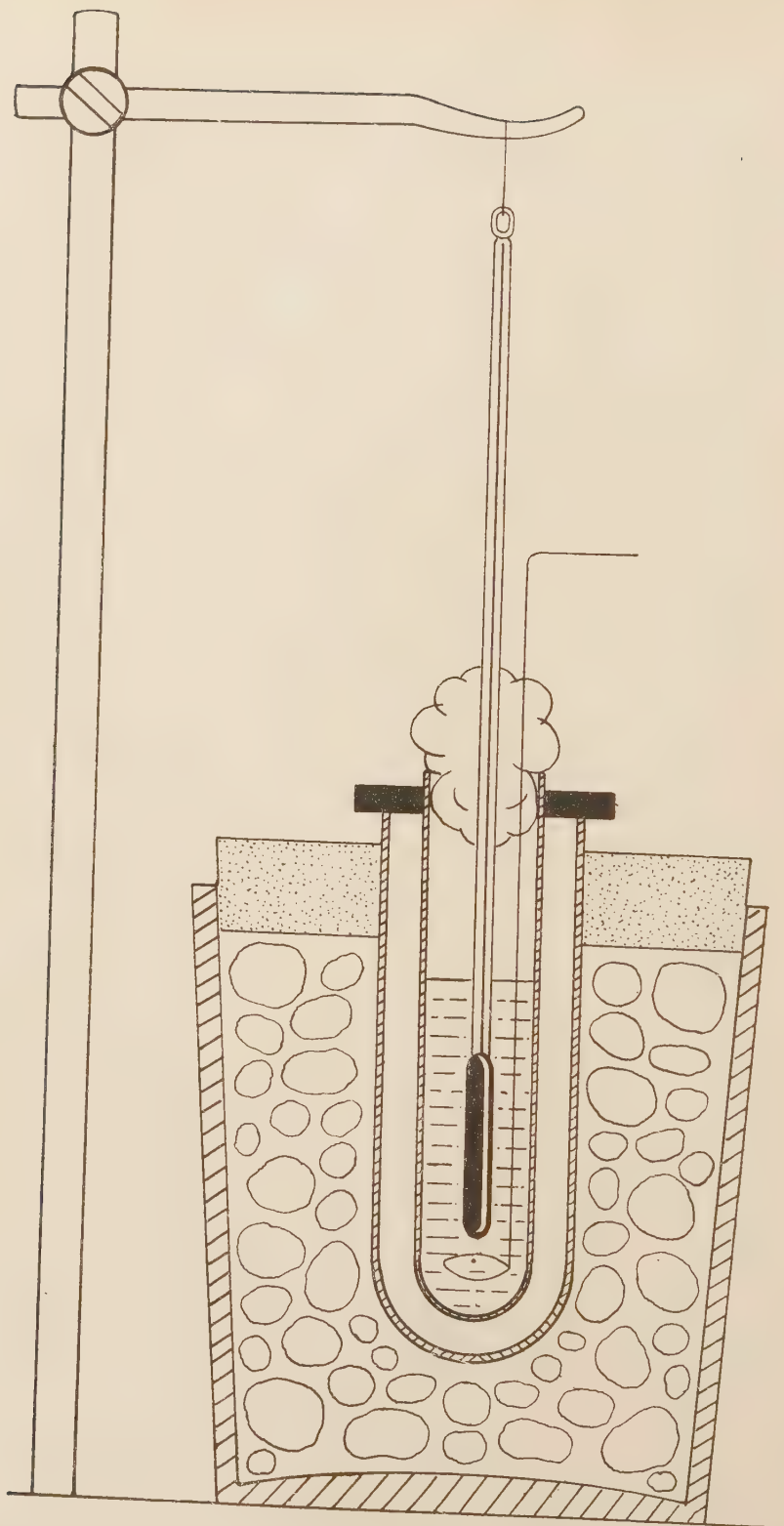


Fig. 3

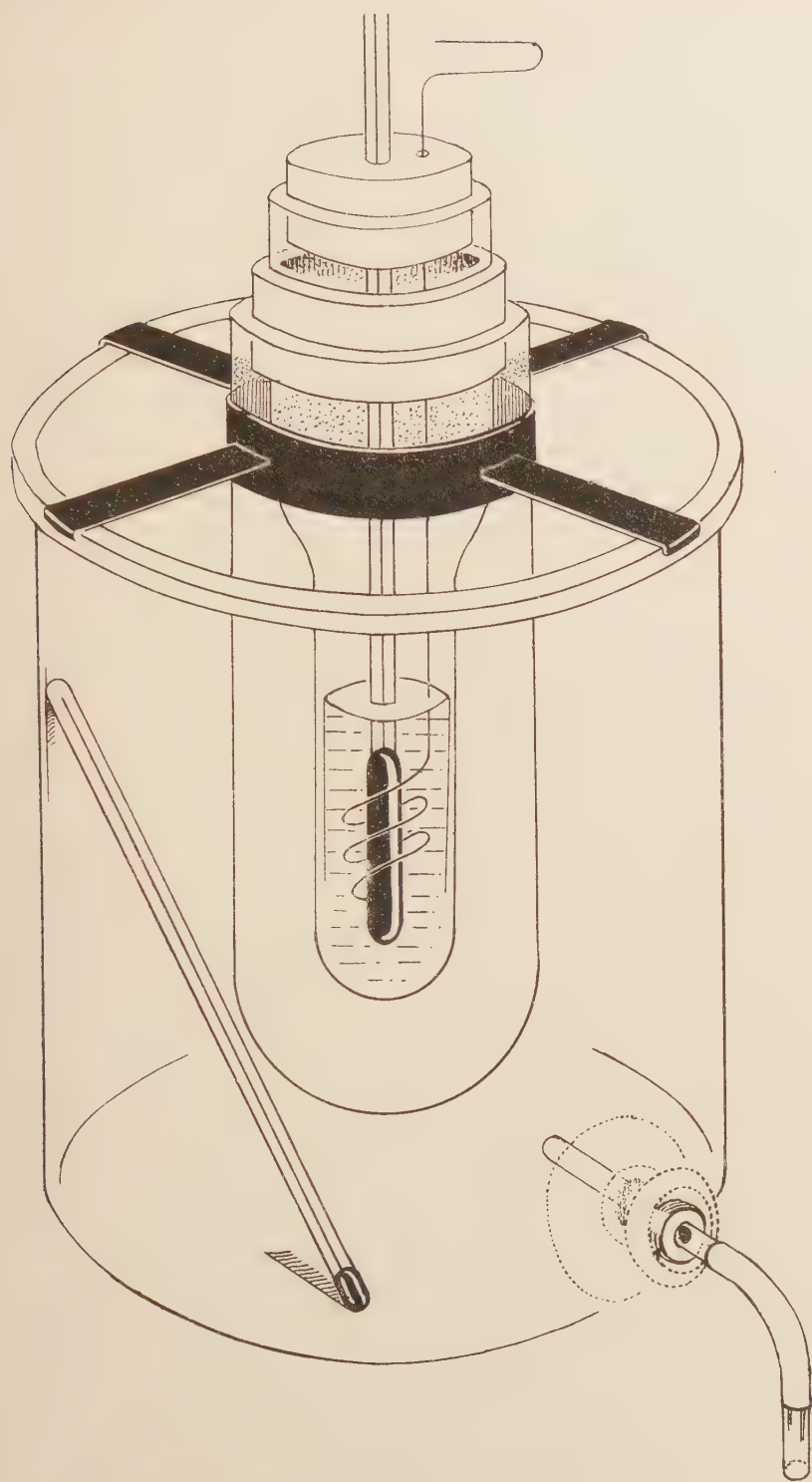


Fig. 4

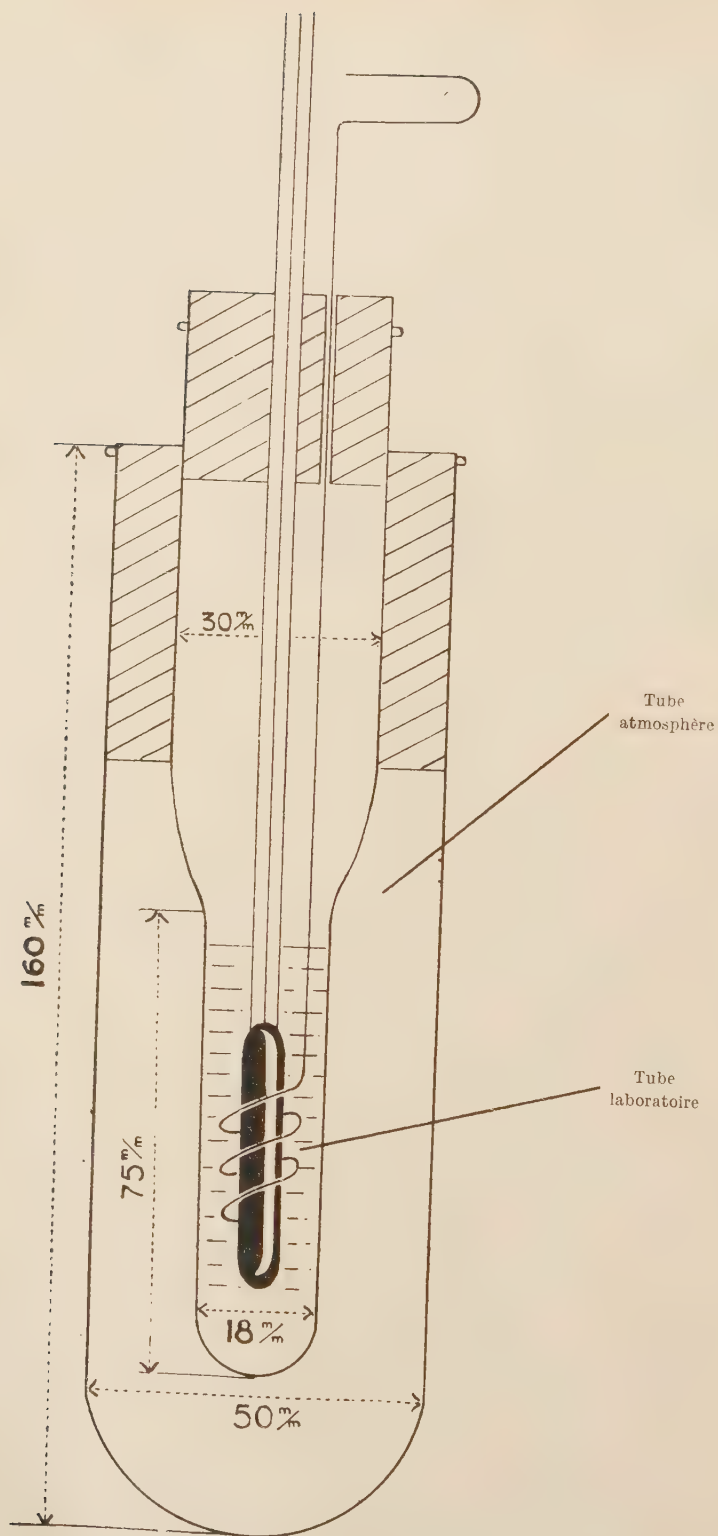


Fig. 5

thermomètre est très fragile; si on le pose horizontalement il se produit très souvent des coupures dans la colonne mercurielle, ce qui occasionne de grosses erreurs.

De plus le centrage parfait de la cuve du thermomètre est à surveiller, afin de ne pas avoir de frottement de l'agitateur sur sa paroi, frottement qui pourrait engendrer une certaine chaleur.

L'agitateur est en fil de nickel très fin à trois spires. Il importe de s'en servir pendant l'opération d'une façon continue afin d'éviter des irrégularités dans la congélation.

Nous avons toujours eu soin avant d'entreprendre une mesure de refaire à l'eau distillée le zéro du thermomètre. Cette précaution est indispensable pour obtenir des mesures absolument rigoureuses.

Le thermomètre dont nous nous sommes servi était particulièrement précis. En effet son 0 est toujours resté très constant et au cours de nos mesures pendant près de deux ans nous avons trouvé pour la température de l'eau bi-distillée $+ 0^{\circ}02$ (à l'exception d'une fois où la température a été $+ 0^{\circ}07$). Ce thermomètre possédait une cuve relativement peu importante et le diamètre intérieur de sa tige était petit.

Pour éviter toute erreur nous n'avons jamais ajouté aucun cristal de glace pour obtenir une amorce de congélation. La régularité de nos courbes montre que ce procédé est superflu dans presque tous les cas.

§ 2. — DOSAGE DU CHLORE

Les méthodes employées par les physiologistes pour doser le chlorure de sodium dans les liquides biologiques ont toutes pour base la précipitation du chlore par le nitrate d'argent après minéralisation.

Nous avons adopté d'emblée la méthode de LAUDAT dans laquelle les matières organiques sont détruites par voie humide à l'aide du permanganate de potassium en milieu azotique et où l'on dose le chlore par la méthode de CHARPENTIER et VOLHARD.

Cette méthode nous a permis d'obtenir des résultats très précis, car les matières organiques sont détruites et la précipitation du chlore se produit en milieu acide.

Nous rappelons simplement le mode opératoire de cette technique (1).

MODE OPÉRATOIRE. — Verser dans un becher en Pyrex de 150 cc. ; 1 cc. de sérum exactement mesuré, 10 cc. de solution de nitrate d'argent, 1 cc. 4 de solution de permanganate de potassium, 4 cc. d'acide nitrique ; porter à l'ébullition avec précaution pour éviter toute projection, laisser bouillir jusqu'à ce que le fin précipité formé soit blanc. Refroidir ; ajouter environ 10 à 15 cc. d'eau distillée, 0 cc. 5 de la solution d'alun de fer, puis goutte à goutte la solution de sulfocyanate de potassium.

CALCUL. — Cl exprimé en grammes de Cl Na par litre = $(10-n) \times 1,17$, n étant le nombre de cc. de sulfocyanate utilisés.

Cette technique peut être utilisée avec la même précision sur 0 cc. 5 de sérum ; il suffit de réduire de moitié les volumes de réactifs employés, et surtout d'utiliser une pipette très bien graduée pour le prélèvement du sérum.

(1) Pour plus de détails consulter FLEURY. — Fiches techniques de chimie biologique. — VÉGA, Paris 1935.

§ 3. — DOSAGE DE L'URÉE

Pour le dosage de l'urée la méthode que nous avons adoptée, parce que seule précise et sensible, est la méthode classique de FOSSE (1) qui dose l'urée sous forme de dixanthylurée par la méthode pondérale. Nous avons suivi comme mode opératoire le mode préconisé par M^{lle} Angèle GUIs (2) en y apportant quelques modifications de détail.

Le dosage se fait dans des tubes à centrifuger tronç coniques tarés à la microbalance avant le dosage, et pesés à la fin. On a pu peser quelques milligrammes de dixanthylurée au $\frac{1}{100^e}$ de milligramme près.

Le sérum est déféqué par le réactif de TANRET à parties égales.

On prélève dans le tube à centrifuger 5 cm³ de filtrat, on ajoute 5 cm³ d'acide acétique et ensuite 1 cc. de solution de xanthidrol à 10 %.

Pour cette dernière manipulation nous avons opéré en 5 fois en versant 0 cc. 2 de solution toutes les dix minutes. On laisse au repos 1/2 heure et on centrifuge dix minutes à 5.000 tours. On décante et on lave le précipité avec 5 cc. d'une solution saturée de xanthylurée dans l'alcool méthylique.

On lave une deuxième fois le précipité avec 3 cm³ de

(1) FOSSE R. — L'urée (Recherches de chimie analytique, biologique, ét agricole). Presse Universitaire de France 1927.

(2) M^{lle} A. GUIs. — Contribution à l'étude du Mécanisme d'action des diurétiques puriques et mercuriels (Doctorat et pharmacie, Paris, 1936).

la même solution et on porte les tubes à l'étuve à 100° pendant 1 heure.

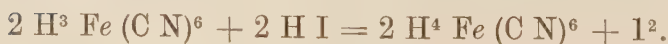
On pèse et le poids de dixanthylurée permet facilement de trouver la quantité d'urée de la prise d'essai.

§ 4. — DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS

Pour la recherche du sucre nous avons utilisé la méthode d'HAGEDORN et JENSEN. Cette méthode standardisée à l'étranger n'est pas encore classique en France, aussi nous allons l'exposer d'une façon détaillée et donner le tableau qui permet de calculer les résultats trouvés en sucre.

Nous rappelons le principe de cette méthode. Il s'applique au sang aussi bien qu'au plasma et au sérum et consiste dans l'oxydation du glucose au moyen d'une solution de ferricyanure de potassium rendue alcaline par du carbonate de sodium et employée en excès. On titre ensuite cet excès en ajoutant de l'iodure de potassium en milieu acétique et on dose l'iode en excès au moyen d'une solution d'hyposulfite de soude $\frac{N}{200}$.

La réaction est la suivante :



L'iode étant dosé :

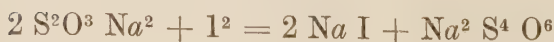


TABLEAU I

CORRESPONDANCE ENTRE LE GLUCOSE (mg)
ET L'HYPOSULFITE (cm³)
MILLIGRAMMES DE GLUCOSE CORRESPONDANT A

cc. d'Hypo.	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	385	382	379	376	373	370	367	364	361	358
0.1	355	352	350	348	345	343	341	338	336	333
0.2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312
0.3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292
0.4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272
0.5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253
0.6	251	249	247	245	243	241	240	238	236	234
0.7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215
0.8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197
0.9	195	193	191	190	188	186	184	182	181	179
1.0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161
1.1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143
1.2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125
1.3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108
1.4	106	104	102	101	99	97	95	93	92	90
1.5	88	86	84	83	81	79	77	75	74	72
1.6	70	68	66	65	63	61	59	57	56	54
1.7	52	50	48	47	45	43	41	39	38	36
1.8	34	32	31	29	27	25	24	22	20	19
1.9	17	15	14	12	10	8	7	5	3	2

MODE OPÉRATOIRE. — Dans un tube à essai pyrex contenant 5 cc. d'une solution de sulfate de zinc à 0,45 pour 100 et 1 cc. de soude $n/10$ on met 0 cc. 1 de sérum avec une micropipette à sang. On aspire et on souffle à 3 reprises pour bien laver la pipette. Le mélange de sulfate de zinc et de soude doit être préparé au moment de l'emploi.

Pour produire la désalbumination, les tubes sont plongés dans l'eau d'un bain-marie bouillant pendant 3 à 5 minutes. On filtre à l'aide d'un petit entonnoir muni d'un léger tampon humide de coton hydrophile qui a été lavé à l'eau bouillante pour enlever les traces de substances réductrices. On recueille sur tubes en verre pyrex de 30 mm de diamètre sur 90 mm de long. Après filtration, on lave le tube à essai et le filtre deux fois chaque fois 3 cc. d'eau. On ajoute 2 cc. très exactement mesurés de solution filtrée de ferricyanure de Potassium et on plonge dans l'eau bouillante pendant quinze minutes puis on refroidit.

La solution de ferricyanure s'obtient en pesant 1 gr. 65 de ce sel purifié par plusieurs recristallisations et en ajoutant 10 gr. 6 de carbonate de sodium pur anhydre et en dissolvant dans une quantité suffisante pour 1.000 cc. d'eau distillée. Cette solution se garde sans altération à l'obscurité pendant deux mois.

Après refroidissement on ajoute au contenu de chaque tube 3 cc. d'une solution iodo-zincique, 2 cc. de solution d'acide acétique à 3 % et on titre avec une solution d'hyposulfite $\frac{N}{200}$ jusqu'à ce que la teinte jaune due à l'amidon disparaisse. On titre en présence de 2 gouttes de solution d'amidon soluble.

La solution iodo-zincique est préparée en employant 10 gr. de sulfate de zinc et 50 gr. de chlorure de sodium 200 cc. d'eau. Ce liquide se conserve bien et au moment de l'emploi on ajoute 1 gr. d'iodure de Potassium pur pour 40 cc. de solution.

La solution d'hyposulfite $\frac{N}{200}$ est préparée aussi au moment de l'emploi à partir d'une solution $\frac{N}{10}$.

Il est nécessaire de faire toujours un titrage à blanc avec l'hyposulfite et d'en déduire la correction nécessaire parce que le ferricyanure seul exige toujours une petite quantité d'hyposulfite.

Dans un tube on mesure 12 cc. d'eau distillée, 2 cc. de ferricyanure, 3 cc. de la solution iodo-zincique, 2 cc. d'acide acétique 3 % et on titre aussitôt. Supposons que l'on trouve 1 cc. 93 d'hyposulfite $\frac{N}{200}$ d'après la table ci-jointe ce chiffre correspond à 12 mmgr. de glucose que l'on retranchera du chiffre obtenu dans la même série d'expérience pour le sérum. Voir tableau I.

§ 5. — TENEUR EN EAU

La pesée de l'extrait sec a été obtenue suivant la technique classique.

Dans des capsules de platine préalablement tarées on place 2 cm³ de sérum, on pèse et on place à l'étuve à 100°. Après un séjour de 4 heures on pèse ; on reporte à l'étuve et on recommence jusqu'à poids constant. Le poids de l'extrait sec est connu par différence.

Avec cette dernière technique nous terminons l'exposé des conditions expérimentales que nous avons suivies au cours de notre travail.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA CONCENTRATION MOLÉCULAIRE ET DE LA TENEUR EN DIVERS CONSTITUANTS DU SÉRUM

Dans le dernier chapitre de la précédente partie nous avons décrit les méthodes qui nous ont servi, au cours de nos expériences, soit à déterminer le point de congélation du sérum, soit à doser certains de ses éléments. Cette deuxième partie va comprendre tout d'abord un premier chapitre où nous allons donner un bref aperçu des travaux sur la concentration moléculaire. Dans un deuxième chapitre, nous exposerons nos résultats suivant l'ordre établi dans la description des techniques que nous avons employées.

CHAPITRE PREMIER

APERÇU HISTORIQUE DES TRAVAUX SUR LA CONCENTRATION MOLÉCULAIRE

Il nous a paru indispensable d'insister au cours de ce travail sur l'étude du point cryoscopique en raison du rôle joué par les phénomènes osmotiques en Biologie.

Nous avons tenu à lui réserver la place la plus importante dans nos recherches. C'est pour bien mettre ceci en évidence que nous donnons avant d'exposer nos résultats expérimentaux un bref aperçu des travaux sur la concentration moléculaire sans nous arrêter à ceux qui pourraient se rapporter aux éléments du sérum que nous avons examinés, à côté du point cryoscopique, mais en deuxième plan.

La connaissance des lois de l'osmose a permis d'expliquer de nombreux phénomènes biologiques et particulièrement la façon dont le milieu intérieur, circulant en système clos, pouvait arriver à servir de liquide nourricier et à être absorbé par les différentes parties de l'organisme.

Il ne faut pas oublier que les lois de l'osmose ainsi que la théorie cohérente de la pression osmotique furent les résultats des recherches de botanistes (DE VRIES (1), PFEFFER (2) qui ont opéré sur des

(1) DE VRIES. — Archiv. Neerl. 1871-VI; Jahrb. f. wtss. Bot., 1884-XV; Bot. Zeit 1888 - 1889.

(2) PFEFFER. — Osmotische Untersuchungen, Liepzig, 1877.

cellules végétales, des recherches équivalentes ont été faites par HAMBURGER et DONDERS (1) sur les globules rouges des mammifères. Ce gros ensemble de recherches donna la loi fort importante qui fit intervenir la concentration moléculaire dans la pression osmotique.

A partir de ce moment on allait pouvoir évaluer la pression osmotique d'une façon facile sans se servir de l'osmomètre dont l'usage n'était pas toujours réalisable pour le biologiste.

Pour VAN t'HOFF en effet la pression osmotique se réduit aux « chocs des molécules libres sur la membrane » ; donc pour lui la valeur de cette pression est due à des chocs moléculaires et dépend du nombre des molécules. La recherche de la pression osmotique revient alors à calculer la concentration moléculaire qui d'après la loi de RAOULT peut être connue par l'abaissement du point de congélation.

Cet abaissement est proportionnel au nombre de molécules dissoutes, donc à la concentration moléculaire exprimée par le rapport :

$$\Delta = K \frac{c}{M},$$
 où K est une constante, M le poids moléculaire et c le poids de corps dissous.

La recherche de la pression osmotique se ramène ainsi à la recherche du point cryoscopique et elle a été entreprise pour la première fois en 1892 par DRESER (2).

(1) HAMBURGER et DONDERS. — *Physiol. Laborat. des Utrechtsche, Hoogerschle* 3-9.

HAMBURGER. — *Osmotischer Druck und Ionenlehre* 3 vol. Wiesbaden 1902 Bergmann.

(2) DRESER. — *Ueber Diurese und ihre Beeinflussung durch pharma biologischemittel Archiv. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.* 1892, t. 29, p. 303.

Cet auteur qui avait opéré sur du sérum obtenu par centrifugation a évalué qu'une baisse de 1° équivaut à une tension de 896 cm. 37 de Mercure et de 121 m. 81 d'eau.

WINTER (1) en 1896 détermine la concentration des liquides de l'organisme ; il trouve pour le cheval, le chien, le bœuf, le lapin, le mouton, le porc un point cryoscopique entre — 0,55 et — 0,57 et conclue « la concentration moléculaire est la même chez les diverses espèces animales et est donc indépendante de l'espèce et de l'individu, elle se rattache selon toute apparence aux conditions générales de l'existence et du milieu physique ambiant exactement comme la température, et toute altération spontanée ou artificielle de cette concentration est une atteinte profonde à la résistance physique de l'individu ».

Quelques années plus tard BOUSQUET (2) (1889) fait des recherches sur le sérum sanguin normal et le sérum dans certains cas pathologiques. Il précise que le point cryoscopique subit des variations notables résultant d'un état pathologique qui peut être décelé ainsi.

Il nous a semblé préférable de ne pas continuer un exposé chronologique, mais plutôt de voir comment cette étude avait été effectuée en tenant compte des divisions zoologiques.

Le milieu intérieur des êtres vivants montre, en effet, un certain nombre de caractéristiques osmotiques

(1) WINTER. — De la concentration moléculaire des liquides de l'organisme. Arch. de physio. norm. et path. V série T. 8. — 1896, p. 114.

(2) BOUSQUET. — Recherches cryoscopiques sur le sérum sanguin. (Bernard Paris-1889). Sur le point de congélation du sérum sanguin dans certains cas pathologiques (C. R. Soc. Biol. 51. — 1899, p. 197.

précises en relation avec le rang plus ou moins élevé qu'ils occupent dans l'échelle animale. C'est ainsi que l'examen du point cryoscopique met en évidence quelques grandes règles. Chez un grand nombre d'*Invertébrés* ou de *Vertébrés* inférieurs, il y a une relation constante entre le point cryoscopique du milieu intérieur et le point cryoscopique du milieu extérieur, ces deux valeurs tendant à l'égalité chez les animaux à *pression osmotique directe*. Chez d'autres la valeur du point cryoscopique intérieur est légèrement supérieur à celui du milieu externe mais sous sa dépendance, ce sont les animaux à *pression osmotique médiate*. Ces deux types d'équilibration osmotique ont donné lieu à de nombreux travaux et les auteurs ont particulièrement insisté sur les variations du point cryoscopique avec le milieu extérieur. Parmi ces chercheurs, nous citerons les noms de BOTAZZI (1) et de FRÉDÉRICQ (2) et sans insister sur leurs recherches, ce qui nous entraînerait trop loin du sujet qui nous intéresse, le point cryoscopique des Mammifères, nous allons donner quelques-uns de leurs résultats ainsi que ceux d'autres auteurs.

(1) BOTAZZI F. — Osmotischer Druck und electrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen pflanzlichen und tierischen Organismen. (Ergebnisse der Phys. 95. — 1908, p. 161).

La pression osmotique du sang des animaux marins Arch. ital. de biologie 27, 61, 1897.

(2) FRÉDÉRICQ L. — Influence du milieu ambiant sur la composition du sang des animaux aquatiques Arch. de Zool. Exp. Sér. 2. T. 3, 1885, p. 34.

Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques (Bull. Acad. roy. de Belg. 1882 Arch. Zool. exp. 1884, 1891, p. 117).

(Acad. roy. de Belg. Bull. de la classe des Sciences, 1901, p. 428).

(Trav. Université de Liège, VII, 1904, 157, 178).

Cryoscopie des solides de l'organisme (Bull. Ac. Roy. de Méd. de Belg. Sér. 4, t. 16, p. 1902, p. 699).

Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine. Bull. de l'Acad. Roy. des Sc. de Bruxelles 1902, 432.

TABLEAU II

EMBRANCHEMENTS	ESPÈCES		AUTEURS
Coelentérés...	Alcyonium palmatum.	— 2,196	Botazzi (1)
Echinodermes.	Astropecten aurantis- cus.....	— 2,312	—
Vers	Sipunculus nudus....	— 2,31	—
Anthropodés	Crustacés..	Maïa quinado.....	— 2,36
		Astacus fluviatilis....	— 0,80
		Ocropsus macropus...	— 2,241
	Insectes...	Dysticus marginalis..	— 0,56
		Mustelus vulgaris....	— 2,98
Vertébrés	Poissons...	Anguilla vulgaris....	— 0,58 — 0,69
		Barbus fluviatilis....	— 0,475 — 0,558
		Rana esculenta	— 0,56
	Batraciens.	id.	— 0,465
		Salamandra maculosa.	— 0,479
	Reptiles ...	Emys europae.....	— 0,475
		Thalassochelys caretta	— 0,61

(1) (2) loc. cit.

(3) WIDMARK E. P. M. — Notizen über den osmotischen Druck der Hämolymphe einiger Wasserkäfer (Zeisch. f. allg phys. Bd 10, 1910 — S. 431).

(4) E. LOUIS BACKMANN. — Der Osmotische Druck bei einigen Wasserkäfern (Zentralbl. f. physiol. Bd. 25, 5.779, 1911).

— Über den osmotischen Druck der Libellen während der Larven- und Imagostadien (Zentralbl. f. Physiol. Bd. 25, 5.845, 1911).

— Über die Entstehung der homoosmotischen Eigenschaften (Zentralbl. Phys. Bd. 25, 5.837, 1911).

BACKMANN et J. RUNNSTRÖM. Physikalisch — chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung. (Biochem. Zeitschr. Bd. 22, 5.290, 1900). (C. R. Soc. Biol. t. 67 p. 414, 1909).

— Osmotisha tryckets förhållande hos Rana temporaria under embryonalutvecklingen. (Upsala Läkareförenings Förh. t. 16, p. 350, 1911).

(5) HOBER R. — Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. W. Engelmann, Leipzig 1906.

La question de la pression osmotique a donné lieu aux plus nombreux travaux (Bert (1), Galloway (2), M^{lle} Firly (3), Dekhuyzen (4), Portier et Duval (5), etc...).

Les recherches de Portier et Duval (5) sont particulièrement intéressantes, elles ont pour but de montrer la variation de la concentration moléculaire par rapport à la salinité du milieu externe et à la teneur du sang en chlorure de sodium.

Si les animaux à équilibration osmotique directe et médiate ont été bien étudiés, il n'en est pas de même des *animaux à indépendance osmotique* parmi lesquels prennent place les oiseaux et les mammifères.

(1) BERT P. — Sur la coagulation du sang (C. R. Soc. Biol. 25, 1875, p. 59).
Sur la cause de la mort des animaux d'eau douce que l'on plonge dans l'eau de mer, et réciproquement (C. R. Ac. Sc. 97, 1883, p. 133).

Animaux d'eau douce dans l'eau de mer (C. R. Soc. Biol. 37, 1885, 525).

(2) GALLOWAY. T. Mel. — The osmotic pressure and saline content of the Blood of Pretromyzon fluviatilis (J. Exp. Biol. 10, 1933, p. 313).

(3) M^{lle} FIRLY. — Influence des variations de salinité sur la pression osmotique des Civelles (C. R. Soc. Biol. 110, 1932, p. 247).

(4) DEKHUYZEN M. C. — Sur la pression osmotique dans le sang et dans l'urine des poissons (Arch. Neerl. des Sc. Exp. et Nat. 10, 1905, p. 121).

(5) PORTIER P. et DUVAL M. — Variation de la pression osmotique du sang du poisson téléostéens d'eau douce sous l'influence de l'accroissement de la salinité de l'eau ambiante (C. R. Ac. Sc. 174, 1922, p. 1366).

Variation de la pression osmotique du sang de l'anguille en fonction des modifications de salinité du milieu extérieur (C. R. Ac. Sc. 175, 1922, p. 324).

Variation de la pression osmotique du sang des Sélaciens sous l'influence de la modification de la salinité de l'eau de mer environnante (C. R. Ac. Sc. 174, 1922, p. 1493).

Pression osmotique de l'anguille essayée en fonction des modifications de salinité des milieux (C. R. Ac. Sc. 175, 1922, p. 1104).

DUVAL M. — Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques (Doctorat ès-sciences Paris 1925).

Pression osmotique effective du sérum des Sélaciens vis à vis de leurs globules rouges (C. R. Soc. Biol. 89, 1923, p. 22).

Sur la teneur en chlorure de sodium du sang des invertébrés marins (C. R. Ac. Sc. 179, 1924, p. 706).

PORTIER (1907) (1) a déterminé la pression osmotique du Renne (— 0,60) et du Renard bleu (— 0,62) ainsi que le point cryoscopique de certains mammifères aquatiques, tels que le phoque (— 0,66 — 0,72 — 0,68).

Les oiseaux aquatiques, éider, goéland, possèdent un Δ entre — 0,65 et — 0,69.

Les résultats des divers travaux montrent que le point cryoscopique des mammifères est moins bas que celui des poissons et mollusques, et que les mammifères aquatiques possèdent le point cryoscopique le plus bas.

La concentration moléculaire du sang et du sérum des Oiseaux et Mammifères a été abordée par COLLIP (1920) (2).

	sérum
Il indique pour le mouton	0,621
lapin	0,615
chien.....	0,647
chat	0,68
homme	0,585
porc	0,600
pigeon	0,633
tourterelle.....	0,522

En résumé nous voyons que si la détermination du point cryoscopique a fait l'objet de nombreux travaux chez les *Invertébrés* et les *Vertébrés* inférieurs (Batraciens et Poissons), cette étude a été à peine ébauchée chez les Oiseaux et les Mammifères.

(1) PORTIER P. — Détermination de la pression osmotique du sang et des liquides internes des vertébrés des contrées polaires arctiques (C. R. Soc. Biol. T. 62. — 1907, p. 627).

(2) COLLIP J.-B. — Osmotic pressure of serum and erythrocytes in various vertebrate types as determined by the cryoscopic method (Y. of. Biol. chemisting 52, 1920, p. 207). — Effect of dilution on the osmotic pressure and corpuscles (J. of Biol. chem. 42, 1920, 213). — Osmotic pressure of tissue as determined by the cryoscopic method. J. Biol. chem. 42, 1920, 221).

CHAPITRE II

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA CONCENTRATION MOLÉCULAIRE ET DE LA TENEUR EN DIVERS CONSTITUANTS DU SÉRUM

Nous allons dans l'exposé de nos résultats expérimentaux suivre l'ordre que nous avons déjà utilisé en décrivant les techniques employées. La cryoscopie fera l'objet du premier paragraphe, puis nous examinerons les résultats en chlore tandis que les produits organiques viendront ensuite, et nous terminerons ce chapitre par la teneur en eau.

§ I. — CRYOSCOPIE

Les mesures cryoscopiques ont été réalisées suivant la technique décrite dans la précédente partie de notre travail.

Pour avoir des conclusions indiscutables, il importait auparavant de s'assurer de la précision de la méthode. Aussi, avant de commencer ces expériences sur du sérum nous avons pris soin d'effectuer nos premières mesures sur des solutions d'urée à 2 % et à 1 %, leurs points cryoscopiques respectifs devant être 0,616 et 0,308. Les résultats que nous avons obtenus oscillent autour de ces chiffres et nous les consignons dans le tableau suivant.

TABLEAU III

POINTS CRYOSCOPIQUES DE SOLUTIONS D'URÉE

Titre de la solution d'urée	Point cryoscopique trouvé	Teneur en urée calculée d'après la valeur de Δ	Erreur pour %
2 %	0,62	2 gr. 00 %	0 %
—	0,61	1 gr. 97	1,5 %
—	0,625	2 gr. 01	1 %
—	0,62	2 gr. 00 %	0 %
—	0,61	1 gr. 97 %	1,5 %
1 %	0,305	0 gr. 98 %	2 %
—	0,32	1 gr. 07 %	3 %
—	0,31	1 gr. %	0 %
—	0,31	1 gr. %	0 %

Comme on le voit à la lecture de ce tableau la précision des résultats que nous obtenions sur des solutions titrées d'urée nous permettait d'opérer d'une façon certaine sur du sérum.

Nous avons cependant tenu à effectuer nos premières mesures sur du sérum de cheval que nous avons en grande quantité et dont la valeur du point cryoscopique était bien déterminée.

A titre d'exemple nous donnons dans le tableau IV les valeurs que nous avons eues pour 21 mesures sur trois sérums différents.

TABLEAU IV

POINT CRYOSCOPIQUE DU SÉRUM DE CHEVAL

SÉRUM DE CHEVAL	POINT CRYOSCOPIQUE
Cheval I	— 0,58
—	— 0,58
—	— 0,58
—	— 0,56
—	— 0,58
—	— 0,58
—	— 0,59
Cheval II	— 0,59
—	— 0,59
—	— 0,58
—	— 0,58
—	— 0,59
—	— 0,59
Cheval III	— 0,60
—	— 0,58
—	— 0,57
—	— 0,595
—	— 0,60
—	— 0,60
—	— 0,60

La mesure du point de congélation a toujours présenté une courbe avec surfusion et nous pensons qu'il n'est pas sans intérêt de reproduire le tracé de deux de ces courbes, car il montre la grande régularité avec laquelle nous avons opéré avec des temps presque toujours identiques.

Nous faisons partir notre courbe à 1^o, temps que nous appelons 0 et nous notons la variation de la température à toutes les minutes.

La courbe III représente le point de congélation du Mouflon de Corse, la courbe IV celle du Cerf pseudaxis.

Nous avons étudié le sérum d'animaux qui appartenaient à trois ordres zoologiques et possédaient des régimes alimentaires différents, les uns étant strictement herbivores, les autres carnivores ou omnivores.

Ils se répartissaient de la façon suivante :

ORDRE DES ONGULES

Famille des *Bovidés* :

Sous-famille des Bovinés :

Génisse.

Gayal (*Bos frontalis* Lambert).

Sous-famille des Caprinés :

Chèvre naine du Sénégal (*Capra hircus* L).

Mouflon de Corse (*Ovis musimon* Pallas).

Mouflon à manchettes (*Ammotragus lervia* Pallas).

Famille des *Camélidés* :

Dromadaire (*Camelus dromedarius* L).

Lama (*Lama glama* L).

Guanaco (*Lama glama huanacus* Molina).

Famille des *Cervidés* :

Daim (*Dama dama* L).

Cerf de France (*Cervus elaphus* L).

Cerf cochon (*Cervus porcinus*).

Cerf pseudaxis (*Cervus pseudaxis* Gray).

Famille des *Equidés* :

Cheval.

Famille des *Eléphantidés* :

Eléphant d'Asie (*Elephas maximus* L).

ORDRE DES CARNIVORES

Familles des *Canidés* :

Chien.

Famille des *Félidés* :

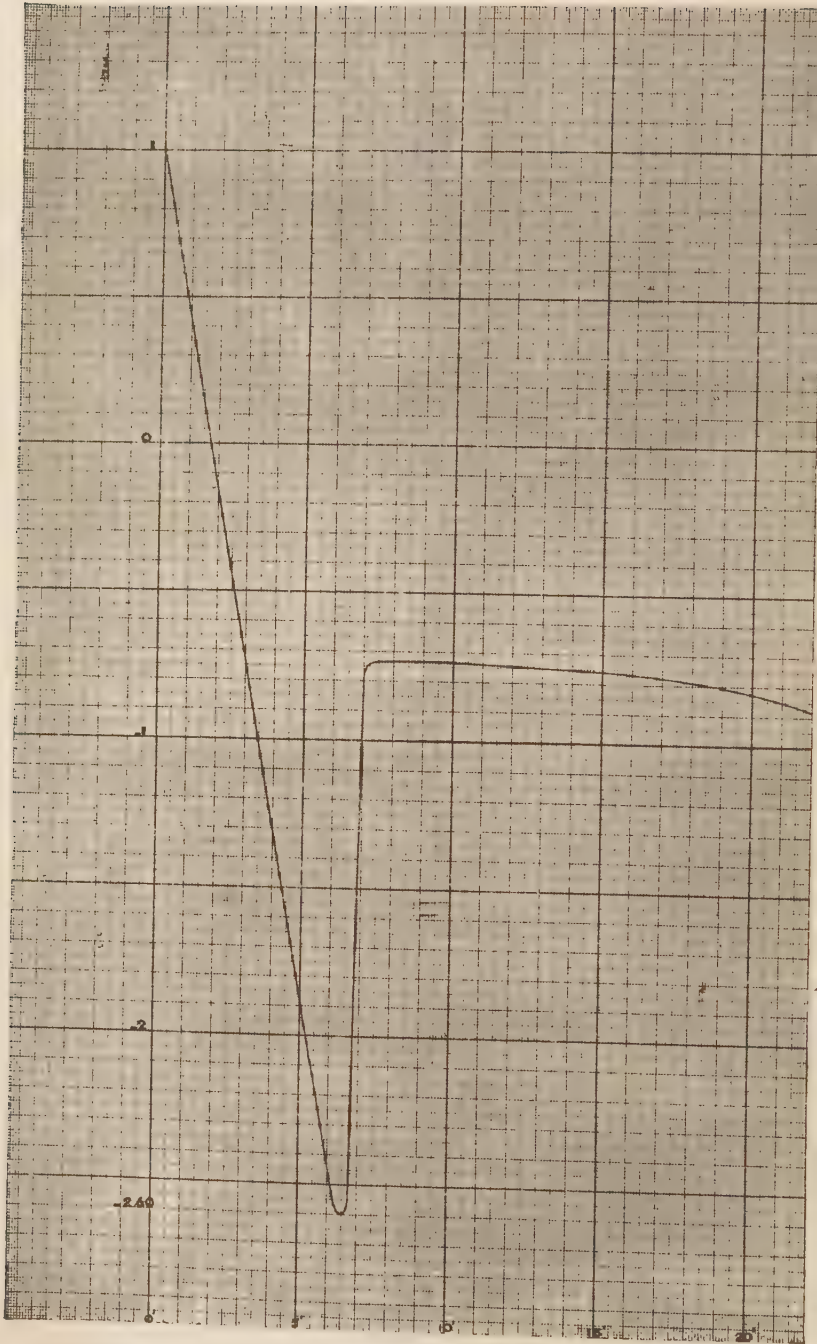
Lion (*Felis leo* L).

ORDRE DES PRIMATES

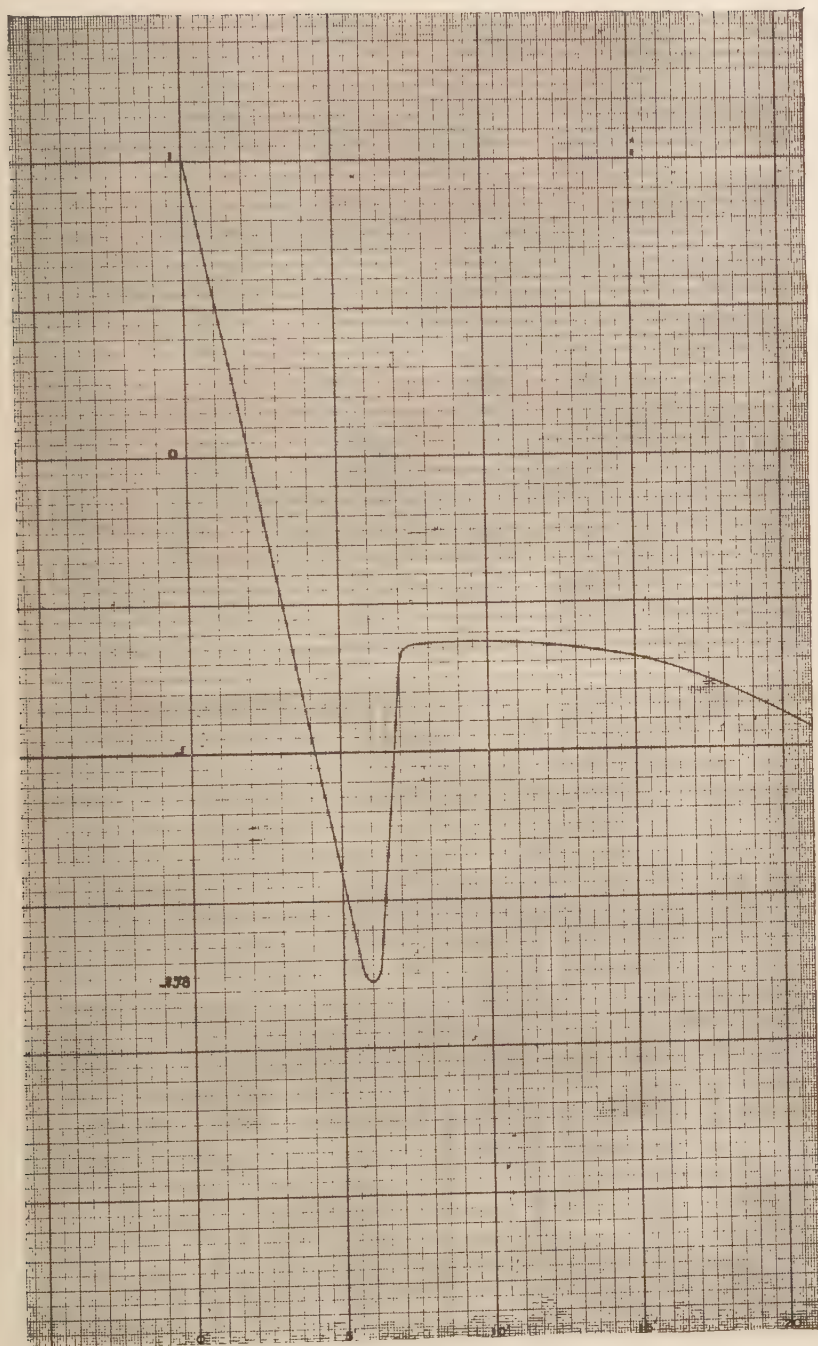
Famille des *Lasiopygidés* ;

Macaque (*Macaca rhesus* Audebert).

Cynocéphale babouin (*Papio papio* Desm).



Courbe III
Mouflon de Corse-3-2.



Courbe IV
Cerf Pseudaxis.

Nous avons ainsi examiné le sérum de 18 espèces se répartissant en 8 familles faisant partie d'ordres différents.

Les résultats relatifs à ces points cryoscopiques sont consignés dans le tableau suivant, sur lequel nous ajoutons la concentration moléculaire calculée d'après

la formule $\Delta = K \frac{c}{M}$.

Chaque chiffre est la moyenne de quatre déterminations faites sur un même sérum et d'autant de déterminations faites sur du sérum d'animaux différents mais de même espèce. Nous avons opéré au moins sur 3 animaux de la même espèce, excepté pour le mouflon à manchettes et le cerf cochon où nos résultats sont ceux de 2 individus. Pour le gayal et l'éléphant d'Asie nous n'avons disposé que d'un seul animal.

Comme on le voit dans le tableau V, les mesures cryoscopiques que nous avons effectuées nous permettent de conclure que le point de congélation du sérum n'est pas le même chez les diverses espèces animales.

Le point cryoscopique le moins bas que nous ayons trouvé est celui de l'éléphant — 0,54, et le plus bas celui du dromadaire — 0,76.

Pour les quelques espèces domestiques que nous avons examinées en même temps que les espèces sauvages nous trouvons des résultats très voisins de

TABLEAU V

VALEUR DU POINT CRYOSCOPIQUE DE DIVERS MAMMIFÈRES

ORDRES	FAMILLES	ESPÈCES	Point cryoscopique	Concentration moléculaire
Ongulés. . .	<i>Bovidés-Bovinés.</i>	Génisse	— 0,61	0,329
		Gayal	— 0,58	0,313
	Caprinés.	Chèvre naine du Sénégal	— 0,70	0,378
		Mouflon de Corse	— 0,68	0,367
		Mouflon à manchettes	— 0,70	0,378
	<i>Camélidés</i>	Dromadaire	— 0,76	0,410
		Lama	— 0,68	0,367
		Guanaco	— 0,69	0,372
		Daim	— 0,62	0,335
	<i>Cervidés</i>	Cerf de France	— 0,62	0,335
		Cerf pseudaxis	— 0,65	0,351
		Cerf cochon	— 0,64	0,345
	<i>Equidés</i>	Cheval	— 0,585	0,316
Carnivores.	<i>Eléphantidés</i>	Eléphant	— 0,54	0,293
	<i>Canidés</i>	Chien	— 0,67	0,362
	<i>Félidés</i>	Lion	— 0,655	0,334
Primates . .	<i>Lasiopygidés</i>	Macaque	— 0,625	0,337
		Cynocéphale babouin	— 0,68	0,367

ceux constatés par divers auteurs, c'est ce que nous mettons en évidence dans le tableau suivant :

	CHERBULIEZ (1)	COLLIP (2)	DRESER (3)	HAM- BURGER (4)	NOLF (5)	RODIER (6)	Résultats personnels
Bœuf..	—	0,598	0,592	0,585	0,578	0,58	0,61 (génisse)
Cheval	0,56 0,58	—	—	0,564	0,571	—	0,585
Chien .	0,62	0,647 0,63	—	0,571	0,583	0,617 0,583	0,67

A ces résultats déjà connus nous apportons la détermination de 15 espèces sauvages dont le point cryoscopique n'avait jamais pu être déterminé, et cette étude a été faite d'une façon systématique, en examinant autant que possible plusieurs espèces dans la même famille.

A ce tableau montrant des moyennes de points cryoscopiques nous devons ajouter certaines remarques.

Au cours de nos recherches, nous avons vu que le point cryoscopique n'est pas constant pour une même espèce et change avec les individus.

(1) CHERBULIEZ, A. — Différence systématiques dans le point de congélation des globules sanguins et du liquide ambiant. — C. R. Soc. Biol. 89, 1923 P. ; 1154.

(2) COLLIP, J.-B. — Déjà cité p. 00.

(3) DRESER. — Déjà cité p. 00.

(4) HAMBURGER. — Osmotischer Druck und Ionenlehre Wiesbaden 1902. — Recherches sur l'équilibre osmotique chimique entre le liquide des globules sanguins et le sérum. Arch. Néerl. de Phys. t. 2, 1918, p. 636.

(5) NOLF. — Technique de la cryoscopie du sang. — Acad. Roy. de Belg. — Bull. de la classe des Sc., 1907, p. 709.

(6) RODIER. — C. R. Ac. Sc., 1900, p. 1008.

Voici en effet les moyennes obtenues pour 5 chèvres naines du Sénégal :

— 0,65, — 0,69, — 0,72, — 0,73, — 0,71.

Les chiffres extrêmes varient entre eux de 0°8 et cette différence est suffisamment appréciable pour être notée ; ceci avait d'ailleurs été signalé par BOUSQUET (1). Cette remarque est générale et s'applique à toutes les espèces que nous avons étudiées, toutefois l'écart est souvent moindre.

Nos recherches ayant porté sur diverses espèces d'une famille nous avons été amené à constater qu'une certaine valeur moyenne du point cryoscopique semble être assez constante à l'intérieur de la famille.

C'est ainsi que chez les Bovinés, les Cervidés, les Equidés, les Canidés, le point cryoscopique est voisin de — 0,60, tandis que pour les Camélidés et les Caprinés il est de — 0,70. Nous pensons que ces valeurs moyennes pourraient être prises comme base de comparaison des points cryoscopiques dans les cas pathologiques.

Cette étude sur un ensemble nous permet de conclure que tandis que le point cryoscopique des mammifères domestiques paraît osciller autour de — 0,60 sans s'en écarter beaucoup, celui des mammifères sauvages possède cette valeur pour certaines espèces, descendant plus bas pour plusieurs autres.

Les seuls points cryoscopiques d'animaux sauvages que nous ayons à notre connaissance sont ceux cités

(1) BOUSQUET. — Déjà cité p. 41.

par PORTIER (1) pour le Renne (*Rangifer tarandus* L) — 0,60, et pour le Renard bleu (*Vulpes lagopus*) — 0,62, — 0,615, valeurs que l'auteur trouve voisines de celles se rapportant aux mammifères domestiques du même groupe. PORTIER donne aussi un point cryoscopique très bas pour un mammifère marin, le Phoque (*Phoca foetida*) — 0,72, et ce chiffre est à rapprocher de celui que RODIER a trouvé chez le Marsouin (*Delphinus phoceana* L) — 0,74.

Nous avons trouvé un point cryoscopique aussi bas chez les Camélidés et les Caprinés et nous allons citer les chiffres extrêmes trouvés pour quelques espèces de ces familles ou sous-familles :

Chèvre naine du Sénégal	A ₃	— 0,73
Mouflon de Corse	3-2	— 0,735
Dromadaire	1	— 0,805
Guanaco	A ₁	— 0,71

Il est intéressant de constater que ces points cryoscopiques très bas s'adressent uniquement à des espèces terrestres car jusqu'ici seuls ceux des mammifères aquatiques étaient les seuls qu'on avait cités atteignant une telle valeur.

Le point de congélation du sérum des mammifères peut donc s'abaisser au delà de — 0,70, mais d'après les diverses espèces que nous avons étudiées on voit que le plus généralement il reste au voisinage de — 0,60.

Le régime alimentaire ne paraît jouer aucun rôle dans la valeur du point cryoscopique puisque des animaux de régime identique strictement herbivores

(1) PORTIER. — Déjà cité p. 45.

comme par exemple les Cervidés et les Camélidés ont un point cryoscopique différent, tandis qu'avec un régime tout autre (carnivore ou omnivore) des animaux présentent un point de congélation très voisin.

On peut constater aussi que le point cryoscopique des mammifères envisagés est plus bas que celui de l'homme pour qui l'on donne un Δ compris entre — 0,53 et — 0,59.

La concentration moléculaire donnée pour l'homme par différents auteurs (VIOLA) (1) (KORANYI) (2) oscille très peu — 0,282 — 0,302 molécule gramme par litre.

Pour les mammifères on a donné comme concentration moléculaire 0,285 à 0,360 molécules grammes par litre. Les concentrations moléculaires que nous avons obtenues diffèrent beaucoup plus et ceci est en rapport avec les points cryoscopiques plus bas que nous avons trouvés. Nous avons une moyenne de 0,350 molécules grammes par litre avec pour chiffres extrêmes 0,293 et 0,410.

CONCLUSIONS

1° Le point cryoscopique chez les Mammifères envisagés varie de — 0,54 à — 0,76.

2° Chez les Bovinés, les Cervidés, les Équidés, les Canidés et les Félidés il reste au voisinage de — 0,60.

3° Le sérum des Camélidés et des Caprinés présente un point cryoscopique moyen de — 0,70.

(1) VIOLA G. — Ricerche elettrochimiche et crioscopiche sopra alcuni sieri umani normali e pathologica (Revist. medic. di Scienze mediche 18, 1901, p. 8).

(2) KORANYI. — Zur diagnostischen Bedeutung einiger pathologischer Eigenschaften des Blutes und Harnes, Mai 1896.

§ 2. — CHLORE

Tout en étudiant le point cryoscopique du sérum nous avons dosé quelques-uns de ses constituants, non seulement ceux qui nous avaient paru susceptibles de modifier la concentration moléculaire, mais encore ceux qui varient avec les états pathologiques.

En premier lieu nous avons dosé le chlore par la technique de LAUDAT (1).

En plus des renseignements que cette recherche pouvait apporter à la pathologie il semblait utile, en effet, de rechercher quelle part cet anion jouait dans la valeur du point cryoscopique. D'après BUGARSKY et TANGL (2) les trois quarts des molécules dissoutes dans le sérum sont des électrolytes dont la plus grande part revient au chlorure de sodium et ces auteurs concluaient que les ions chlore et sodium fournissaient presque entièrement la pression osmotique du sérum.

WINTER (3) cite MALASSEZ et HAMBURGER et indique en parlant de la concentration moléculaire des liquides de l'organisme que le sel a dans le sérum une concentration de 0 gr. 61 dans 100 gr. d'eau.

(1) LAUDAT. — Fiches de Fleury.

(2) BUGARSKY et TANGL. — *Physikalische Untersuchungen über die Molekularen Konzentrations Verhältnisse des Blutserums*. Pflügers Arch. 72, 1898, p. 531.

(3) WINTER J. — De l'équilibre moléculaire des humeurs. — *Arch. de phys. norm. et path.* 8 — 1896, p. 287.

Du rôle des chlorures et des plasmas dans l'organisme. *C. R. Soc. Biol.* 48, 1896, p. 692.

Nos expériences ont consisté à doser le chlore du sérum prélevé sur les animaux ci-dessus envisagés. Les résultats obtenus font l'objet du tableau VI.

Nous avons indiqué la teneur en grammes par litre du chlorure de sodium du sérum, le point cryoscopique dû à ce chlorure de sodium (1), le point cryoscopique du sérum et enfin la valeur du rapport $\frac{\Delta \text{Cl Na}}{\Delta \text{sérum}}$ ceci nous permettant d'apprécier la part qui revient au Cl Na dans la concentration moléculaire du sérum.

La première conclusion qui apparaît à la lecture de ce tableau est la suivante :

La teneur en chlorure de sodium paraît dans tous les cas envisagés être au voisinage de 5 gr. 50 à 6 gr. 50, cette valeur étant voisine de celle observée chez l'homme.

Cependant on note quelques chiffres différents chez certains Cervidés (Cerf Pseudaxis, Cerf de France, Cerf Cochon) et chez un Éléphantidé (Éléphant d'Asie), chez lesquels le sérum renferme une quantité de Cl Na qui est moindre (3 gr. 77 à 4 gr. 76 par litre).

(1) Le point cryoscopique du chlorure de sodium a été calculé à partir du point cryoscopique d'une solution de sel à 10 ‰. Nous avons trouvé qu'une telle solution se congèle à — 0° 62. Nous avons obtenu pour des solutions ayant des titres en sel compris entre 5 et 40 ‰ des points de congélation très sensiblement proportionnels à la teneur en Cl Na et nous avons calculé le Δ grâce à cette proportionalité. Une solution de c. g. ou au litre se congelant à : $\frac{0,62 \times c.}{10}$.

TABLEAU VI

TENEUR EN CHLORURE DE SODIUM DU SÉRUM

ORDRES	FAMILLES	ESPÈCES	Cl Na gr. par litre	Δ Cl Na	Δ Sérum	$\frac{\Delta \text{Cl Na}}{\Delta \text{Sérum}}$
Ongulés. . .	<i>Bovidés-Bovinés.</i>	Génisse	6,02	— 0,37	— 0,61	0,60
		Gayal	5,49	— 0,34	— 0,58	0,58
	<i>Caprinés.</i>	Chèvre naine du Sénégal	5,97	— 0,37	— 0,70	0,53
		Mouflon de Corse	6,95	— 0,43	— 0,68	0,63
	<i>Camélidés . . .</i>	Dromadaire . . .	6,56	— 0,40	— 0,76	0,52
		Lama	6,65	— 0,41	— 0,68	0,58
		Guanaco	6,21	— 0,385	— 0,69	0,55
	<i>Cervidés</i>	Daim	5,85	— 0,36	— 0,62	0,55
		Cerf de France .	4,53	— 0,28	— 0,62	0,45
		Cerf pseudaxis .	4,39	— 0,27	— 0,65	0,43
		Cerf cochon . . .	4,76	— 0,295	— 0,64	0,46
	<i>Equidés</i>	Cheval	5,57	— 0,345	— 0,585	0,58
	<i>Eléphantidés .</i>	Eléphant	3,77	— 0,23	— 0,54	0,42
Carnivores.	<i>Canidés</i>	Chien	5,66	— 0,35	— 0,67	0,52
	<i>Félidés</i>	Lion	6,66	— 0,41	— 0,655	0,62
Primates. .	<i>Lasiopygidés..</i>	Cynocéphale babouin	5,13	— 0,31	— 0,68	0,45

Les valeurs en chlorure de sodium, telles que l'indique le tableau, se montrent sensiblement constantes dans une même espèce animale et relativement voisine d'une espèce à l'autre à l'intérieur d'une même famille. Cette remarque se constate facilement si l'on donne les détails des résultats pour une même espèce.

Pour cinq animaux différents, on trouve chez le Lama les chiffres suivants, 6,66, 6,64, 6,71, 6,55, 6,69, chiffres qui, on le voit, sont très rapprochés. Chez quatre Mouflons examinés la teneur en *Cl Na* est de 7,00, 6,91, 6,90, 7,02, valeurs qui sont encore plus voisines. L'ensemble des chiffres donnés pour les familles des Camélidés et des Cervidés (exception faite du daim) plaide en faveur de la constance de la valeur du chlore dans une même famille.

Enfin le rapport de la concentration en *Cl Na* et de la concentration moléculaire est également d'un intérêt réel. Toutefois, il ne faut pas y voir une signification trop absolue car dans l'évaluation du point cryoscopique dû au *Cl Na*, on calcule comme si ce sel était dilué dans l'eau distillée et la dissociation du *Cl Na* dans l'eau n'est peut-être pas la même que dans le sérum.

On sait que la physiologie comparée montre que ce rapport est fonction du degré d'organisation des animaux et augmente quand on descend l'échelle animale, ce rapport étant égal à 1 chez les Invertébrés marins inférieurs tandis qu'il est égal à environ 0,66 chez les Mammifères. Chez les Mammifères domestiques le chlorure de sodium entrerait pour $\frac{3}{4}$ environ dans le point cryoscopique du sérum.

Or nos résultats montrent que ce rapport se trouve inférieur à 0,66. Il varie, en effet, entre 0,63 et 0,42. Il est intéressant de signaler que la valeur de ce rapport est inférieure dans la moitié des animaux envisagés, à celle trouvée chez l'homme.

Ainsi le rôle du chlorure de sodium est donc moins important lorsque l'organisme se perfectionne et dans la plupart des Mammifères que nous avons eu à notre disposition, il ne donnerait qu'à peine la moitié de la valeur du point cryoscopique.

CONCLUSIONS

1^o La teneur en chlorure de sodium du sérum varie dans la plupart des cas entre 5 gr. 50 et 6 gr. 50 par litre.

2^o Toutefois chez certains Cervidés (*Cerf Pseudaxis*, *Cerf de France*, *Cerf Cochon*) et chez un Eléphantidé (*Eléphant d'Asie*) le sérum en renferme une quantité moindre (3 gr. 77 à 4 gr. 76 exprimé en Cl Na par litre).

§ 3. — URÉE

A l'étude de la concentration moléculaire nous avons cru utile d'ajouter la détermination de l'urée. En pathologie, on se préoccupe du comportement du chlore et de l'urée au cours de certaines maladies ; aussi avons-nous pensé qu'il serait utile de connaître la teneur du sérum en ces corps chez des animaux normaux, cela pouvant servir de base à une étude de cas pathologiques.

Nous savions, de plus, que DUVAL (1) avait trouvé chez la raie un point cryoscopique très bas — 1,89 et que ce Δ n'était que de — 1,10 après destruction de l'urée. Comme nous avons trouvé des points cryoscopiques assez bas chez certains mammifères nous nous sommes demandés si ces valeurs n'étaient pas sous la dépendance de l'urée.

Nous savions aussi d'après les recherches et les résultats déjà publiés par le laboratoire d'Éthologie des Animaux sauvages que la teneur en urée était quelquefois très forte chez les animaux sauvages, et variait de 0 gr. 40 à 0 gr. 80. Nous avons tenu à reprendre cette étude chez les animaux sur lesquels nous recherchions le point cryoscopique.

Les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau suivant (Tableau VII) où nous donnons aussi la valeur du point cryoscopique dû à l'urée.

Le premier fait qui apparaît à la lecture de ce tableau est que la teneur en urée se montre très variable d'une espèce à l'autre et variable dans une même famille.

Il n'est pas possible de retrouver pour l'urée une certaine constance comme nous l'avons signalé pour le point cryoscopique ou pour le chlorure de sodium, mais on observe, au contraire, de grands écarts entre espèces voisines. Par exemple le sérum du Cerf de France a une teneur en urée de 0 gr. 188, tandis que celle du Cerf Cochon est de 0 gr. 871.

Ces résultats que nous avons obtenus confirment les conclusions de Ach. URBAIN et R. CAHEN qui

(1) DUVAL M. — Déjà cité.

TABLEAU VII

TENEUR EN URÉE DU SÉRUM

ORDRES	FAMILLES	ESPÈCES	CO $\begin{smallmatrix} \text{NH}^2 \\ \text{NH}^2 \end{smallmatrix}$ gr. au litre	Δ CO $\begin{smallmatrix} \text{NH}^2 \\ \text{NH}^2 \end{smallmatrix}$
Ongulés...	<i>Bovidés-Bovinés.</i>	Génisse.....	0,306	0,009
	<i>Caprinés.</i>	Chèvre naine.....	0,514	0,015
		Mouflon de Corse....	0,72	0,022
		Dromadaire.....	1,44	0,044
	<i>Camélidés.....</i>	Lama.....	0,771	0,023
		Guanaco.....	0,928	0,028
		Daim.....	0,499	0,015
	<i>Cervidés.....</i>	Cerf de France.....	0,188	0,005
		Cerf pseudaxis.....	0,585	0,018
		Cerf cochon.....	0,871	0,026
Carnivores.	<i>Equidés.....</i>	Cheval.....	0,528	0,016
	<i>Eléphantidés....</i>	Éléphant.....	0,199	0,006
	<i>Canidés.....</i>	Chien.....	0,249	0,007
	<i>Félidés.....</i>	Lion.....	0,971	0,029
Primates..	<i>Lasiopygidés...</i>	Cynocéphale Babouin	0,356	0,010

avaient déjà signalé les grandes variations de l'urée et une teneur beaucoup plus forte chez les animaux que chez l'homme.

A ces conclusions nous pouvons ajouter que la teneur en urée est quelquefois très importante, voisine de l'unité chez le Guanaco, le Cerf Cochon, le Lion et quelquefois même supérieure (Dromadaire).

Chez les Ongulés les chiffres d'urée trouvés sont excessivement variables.

Certains Carnivores (Félidés) possèdent une teneur en urée élevée, tandis que les Primates paraissent avoir une urémie voisine de celle de l'homme.

Malgré des teneurs aussi fortes en urée, le point cryoscopique du sérum doit être faiblement influencé par celui de l'urée qui est peu appréciable.

Cependant si nous rapprochons ce tableau du tableau V nous voyons que les animaux voient généralement leur point cryoscopique varier dans le même sens que l'urée. Ceux qui ont en effet un point cryoscopique élevé ont aussi une urée élevée à l'exception toutefois du Cerf Cochon.

CONCLUSIONS

1^o La teneur en urée se montre très variable, allant de 0 gr. 188 à 1 gr. 44 par litre.

2^o On n'a pu noter aucune constance dans la teneur en urée sérique à l'intérieur d'une même famille ou d'une même espèce.

3^o Parmi les ordres étudiés, les Ongulés et les Carnivores semblent avoir une urémie normale plus forte que l'homme, par contre celle des Primates en est très voisine.

§ 4. — SUCRES RÉDUCTEURS

A l'étude d'un anion et d'un composé organique azoté nous avons ajouté sur les bienveillants conseils de M. le Professeur LAUNOY la détermination des sucres réducteurs du sérum.

La littérature à ce sujet est pauvre même pour les animaux domestiques car cette étude a été négligée à cause de la glycolyse qui survient au cours de la coagulation. Sans préjuger de la nature des éléments responsables de la réduction nous avons dosé les sucres du sérum et nos expériences montrent que ceux-ci existaient encore en quantité appréciable.

La méthode d'HAGEDORN et JENSEN que nous avons employée s'est montrée des plus précise.

Le tableau N° VIII donne les résultats trouvés pour des essais préliminaires sur une solution de glucose à 1 %.

TABLEAU VIII

DOSAGE D'UNE SOLUTION DE GLUCOSE

Titre de la solution de glucose	Titre trouvé	Erreur pour ‰
1 %	1 gr. 02	2 ‰
—	1 gr. 00	0 ‰
—	1 gr. 04	4 ‰
—	1 gr. 00	0 ‰
—	1 gr. 01	1 ‰
—	1 gr. 01	1 ‰

Cette méthode qui nous a permis d'utiliser de très petites quantités de sérum, nous a toujours donné des résultats très constants, les chiffres trouvés pour 4 dosages d'un même sérum étant souvent exactement identiques. Les résultats sont consignés dans le tableau N° IX.

Comme il apparaît dans ce tableau la quantité de sucre trouvée chez les animaux envisagés est très variable puisque les résultats s'échelonnent entre 0 gr. 27 et 1 gr. 03 par litre de sérum.

La valeur que nous avons obtenue pour le sérum de cheval est voisine de celle donnée par DUMAZERT (1).

La teneur en sucre du sérum est encore plus variable que celle de l'urée et ne semble pas varier dans le même sens que le point cryoscopique. Pour des animaux ayant un point cryoscopique, très voisin, par exemple, la chèvre naine et le mouflon de Corse, les teneurs en sucre sont extrêmement différentes, 0,27 et 0,95.

On ne trouve pas de rapport entre la glycémie de deux espèces voisines, aussi il ne peut y avoir un chiffre qui serait caractéristique de la famille.

CONCLUSION

La teneur du sérum en sucres réducteurs est différente d'une espèce à l'autre et varie de 0 gr. 27 à 1 gr. 03.

(1) DUMAZERT. — Bull. Soc. Ch. Biol. T. 16, 1934, p. p. 932, 940.

C. R. Soc. Biol. 113, 1934, p. 1061.

C. R. Soc. Biol. 118, 1935, p. 570.

TABLEAU IX

TENEUR EN SUCRES RÉDUCTEURS DU SÉRUM

ORDRES	FAMILLES	ESPÈCES	GLUCOSE gr. au litre
Ongulés...	<i>Bovidés-Bovinés.</i>	Génisse	0,43
	<i>Caprinés.</i>	Chèvre naine.....	0,27
		Mouflon de Corse	0,95
	<i>Camélidés.....</i>	Dromadaire	0,43
		Lama	0,87
		Guanaco.....	0,56
		Daim.....	0,86
	<i>Cervidés.....</i>	Cerf de France	0,37
		Cerf cochon.....	0,34
	<i>Equidés.....</i>	Cheval.....	0,86
Carnivores.	<i>Eléphantidés ...</i>	Éléphant.....	0,74
	<i>Canidés.....</i>	Chien.....	0,795
	<i>Félidés.....</i>	Lion	0,44
Primates..	<i>Lasiopygidés ...</i>	Cynocéphale Babouin.....	1,03

§ 5. — TENEUR EN EAU

Le dernier paragraphe de ce travail est consacré à la détermination du poids de l'ensemble des éléments dissous dans le sérum et à la teneur en eau.

Nous avons déterminé la valeur en extrait sec et nous en avons déduit la teneur en eau par différence.

Les chiffres que nous avons trouvés sont consignés dans le tableau N^o X.

TABLEAU X. — Teneur en extrait sec du sérum (voir page 62).

D'après ce tableau nous voyons que le poids des corps qui entrent en solution dans l'eau du sérum varie entre 66 gr. 50 et 116 gr. 60 par litre et que la teneur en eau est assez constante, fait qui est d'ailleurs général en biologie.

On voit de plus que la moitié du point cryoscopique du sérum qui est dû au chlorure de sodium se rapporte à un poids très faible des corps dissous dans le sérum (5 gr. 5 à 6 gr. 5). Le reste de la valeur du point de congélation du sérum serait donc sous la dépendance des autres électrolytes et des corps à grosses molécules tels les protéines.

CONCLUSION

La teneur en eau paraît assez constante et voisine de 920 gr. par litre.

TABLEAU X

TENEUR EN EXTRAIT SEC DU SÉRUM

ORDRES	FAMILLES	ESPÈCES	Teneur en extrait sec exprimée en gr. pour 1 000 cc. de sérum	Teneur en eau expri- mée en gr. pour 1.000 cc. de sérum
Ongulés...	<i>Bovidés-Bovinés.</i>	Génisse.....	88,50	911,50
		Gayal.....	116,60	883,40
	Caprinés.	Chèvre naine.....	82,75	917,25
		Mouflon de Corse....	80,50	919,50
		Mouflon à manchettes	73,75	926,25
	<i>Camélidés.....</i>	Dromadaire.....	64,50	935,50
		Lama.....	67,30	932,70
		Guanaco.....	78,00	922,00
	<i>Cervidés.....</i>	Daim.....	77,25	922,75
		Cerf de France.....	72,00	928,00
		Cerf pseudaxis.....	94,00	906,00
		Cerf cochon.....	88,75	911,25
Carnivores.	<i>Equidés.....</i>	Cheval.....	90,25	909,75
	<i>Eléphantidés....</i>	Éléphant d'Asie....	94,5	905,50
	<i>Canidés.....</i>	Chien.....	85,5	914,50
	<i>Félidés.....</i>	Lion.....	96,50	903,50
Primates..	<i>Lasiopygidés...</i>	Macaque.....	67,85	932,15
		Cynocephale Babouin.	88,00	912,00

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches décrites dans ce travail concernent la concentration moléculaire et la teneur en chlore, urée, sucres réducteurs et eau du sérum des Mammifères.

En voici les conclusions générales :

I. — *Cryoscopie*

1° Le point cryoscopique chez les Mammifères envisagés varie de $-0,54$ à $-0,76$.

2° Chez les *Bovidés*, les *Cervidés*, les *Equidés*, les *Canidés*, les *Félidés*, le point cryoscopique est au voisinage de $-0,60$, tandis qu'il paraît atteindre $-0,70$ chez les *Camélidés* et les *Caprinés*.

3° Cette constante physique du sérum semble être sensiblement la même à l'intérieur d'une même famille.

4° Les points de congélation trouvés pour le sérum des animaux sauvages paraissent plus bas que ceux des espèces domestiques et celui de l'homme.

II. — *Chlore*

1^o La teneur en chlore du sérum des Mammifères étudiés varie entre 5 gr. 50 et 6 gr. 50 par litre exprimé en $ClNa$.

2^o Chez certains *Cervidés* (Cerf Pseudaxis, Cerf de France, Cerf Cochon) et chez un *Eléphantidé* (Éléphant d'Asie) cette teneur est cependant plus faible (3 gr. 80 à 4 gr. 75).

3^o La valeur du chlorure de sodium paraît sensiblement constante dans une même espèce animale et très voisine d'une espèce à l'autre.

4^o Les chiffres trouvés chez les animaux se rapprochent de ceux observés chez l'homme.

III. — *Urée*

1^o La teneur en urée est très variable (0 gr. 190 à 1 gr. 45 par litre).

2^o Cette valeur n'est pas constante chez les divers animaux envisagés.

3^o Chez les Primates, la teneur en urée semble voisine de celle de l'homme, tandis que celle des Ongulés et des Carnivores est plus élevée.

IV. — *Sucres réducteurs*

1^o Le sérum des Mammifères examinés contient de 0 gr. 25 à 1 gr. 05 de sucres réducteurs.

2^o La teneur en sucres réducteurs varie d'une espèce animale à l'autre.

V. — *Teneur en eau*

La teneur en eau de divers sérums est peu variable d'une espèce animale à l'autre.

Vu : *Le Doyen*,
A. DAMIENS

Lu et approuvé :
Le Président,
LAUNOY

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur,
G. ROUSSY

INDEX ALPHABÉTIQUE

- ATKINS W. R. Gel. — The osmotic pressure of the blood and eggs of birds (Scient. Proceed. of the Royal Dublin Society, 12, 1909, p. 123).
- BACKMANN Von E. Louis. — Der Osmotische Druck bei einigen Wasserkäfern (Pflüger's Archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 149, 1913, p. 93).
- BACKMANN L. und RUNNSTRÖM J. — Der Osmotische Druck während der Embryonalentwicklung von *Rana temporaria* (Pflüger's Archiv für die Gesamte Physiologie der Menschen und der Tiere, 144, 1912, p. 287).
- BAUDOUIN A. et LEWIN J. — Une nouvelle méthode de dosage de petites quantités de sucre : application au sang et aux autres humeurs de l'organisme (Bull. Sc. Chim., Biol., IX, 1927, pp. 280, 309).
- Une nouvelle méthode de dosage des chlorures dans les liquides biologiques (C. R. Soc. Biol., t. 104, 1930, p. 485).
- BERT P. — Sur la coagulation du sang (C. R. Soc. Biol., 25, 1873, p. 59).
- Sur la cause de la mort des animaux d'eau douce que l'on plonge dans l'eau de mer et réciproquement (C. R. Ac. Sc., 97, 1883, p. 133).
- Animaux d'eau douce dans l'eau de mer (C. R. Soc. Biol., 37, 1885, p. 525).
- BOTAZZI F. — Osmotischer Druck und electrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen pflanzlichen und tierischen Organismen (Ergbenisse der Phys., 95, 1908, p. 161).
- La pression osmotique du sang des animaux marins (Arch. ital. de biologie, 26, 1896, p. 161 ; 27, 1897, p. 61 ; Archiv. de Fisiologia, 3, 1906, p. 416).

- BOUSQUET F. — Recherches cryoscopiques sur le sérum sanguin (Bernard, Paris, 1899).
— Sur le point de congélation du sérum sanguin dans certains cas pathologiques (C. R. Soc. Biol., 51, 1899, p. 101).
- BUGARSKY und TANGL. — Physikalisch chemische Untersuchungen über die molekulären Konzentrationverhältnisse der Blutserums (Pflügers Archiv., t. 72, 1898, p. 531).
- CHABANIER H., GUILLAUMIN Ch. O., LAUDAT M., LÉVY M., PUGET M. et VAILLE C. — A propos du chlore sanguin (Bull. Soc. Chim. Biol., XIX, 1937, p. 800).
- CHABANIER H., LEBERT M. et WAHL R. — Sur le dosage de l'urée dans le sang (Bull. Soc. Chim. Biol., IX, 1927, p. 277).
- CHANOZ M. et LAVIS. — Point de congélation. Conductibilité électrique et poids spécifique du sérum de chèvre (Sang artériel et sang veineux rénal) (Lyon Médical, CIII, 1904, p. 1.021).
- CHERBULIEZ A. — Différence systématique dans le point de congélation des globules sanguins et du liquide ambiant (C. R. Soc. Biol., 89, 1923, p. 1.154).
- COLLIP J. B. — Osmotic pressure of serum and erythrocytes in various vertebrate types as determined by the cryoscopic methods. With a note as the effect of freezing on the arterial blood of the rat (J. of Biol. Chem., 42, 1920, p. 207).
— Effect of dilution on the osmotic pressure and the electrical conductivity of whole blood, blood serum and corpuscles (J. of Biol. Chem., 42, 1920, p. 213).
— Osmotic pressure of tissue as determined by the cryoscopic method (J. of Biol. Chem., 42, 1920, p. 221).
- DEKHUYZEN M. C. — Sur la pression osmotique dans le sang et dans l'urine des poissons (Arch. Neerl. des Sc. Exp. et Naturelles, 10, 1905, pp. 121, 130).
- DRESER. — Ueber Diurese und ihre Beeinflussung durch pharmabiologische Mittel (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol., t. 29, 1892, p. 303).
- DUMAZERT. — Sur le microdosage des aldoses (Bull. Soc. Chim. Biol., 16, 1934, pp. 932, 940).
— Déproteinisation par l'hydrate de cadmium et glycémie (C. R. Soc. Biol., 113, 1933, p. 106).

— Microdosage iodométrique de la glycémie (C. R. Soc. Biol. 118, 1935, p. 570).

— Sur le microdosage iodométrique des aldoses et son application au dosage de la glycémie (Thèse Doctorat pharmacie 1936, Marseille).

DUVAL M. — Recherches physico-chimiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques (Thèse Doctorat, Paris 1925).

— Pression osmotique effective du sérum des sélaciens vis-à-vis de leurs globules rouges (C. R. Soc. Biol., 89, 1923, p. 22).

— Constance remarquable du milieu intérieur des Téléostéens marins (C. R. Ac. Sc. 178, 1924, p. 128).

— Relation entre la concentration moléculaire du sang des Crustacés et leur milieu intérieur (C. R. Ac. Sc. 178, 1924, p. 1.754).

— Sur la teneur en chlorure de sodium du sang de quelques invertébrés (C. R. Ac. Sc., 179, 1924, p. 706).

Mlle FIRLYS. — Influence des variations de salinité sur la pression osmotique des civelles (C. R. Soc. Biol., 110, 1932, p. 247).

FOSSE R. — Recherches de chimie analytique, biologique et agricole (Presse Universitaire de France, 1927).

FRÉDÉRICQ L. — Influence du milieu ambiant sur la composition du sang des animaux aquatiques (Arch. de Zool. exp. et gén., 1885, p. 34).

— Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine (Bull. de l'Acad. Roy. des Sc. de Bruxelles, 1902, p. 437).

— Cryoscopie des solides de l'organisme (Bull. de l'Acad. Roy. de Méd. de Belgique, Sér. 4, t. 16, 1902, p. 699).

— Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques (Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Cl. des Sc., 1901, p. 428).

GALLOWAY T. Mcl. — The osmotic pressure and saline content of the Blood of *Petromyzon fluviatilis* (J. Exp. Biol., 10, 1933, pp. 313-316).

GÆVAERT P. — Recherches cliniques sur la pression osmotique des Colloïdes du Sérum I. Technique (C. R. Soc. Biol., 89, 1923, p. 678).

— Recherches cliniques sur la pression osmotique des Colloïdes du Sérum II. Résultats (C. R. Soc. Biol., 89, 1923, p. 680).

- Influence de la teneur du sérum en ions minéraux sur la pression osmotique des Protéines (C. R. Soc. Biol., 101, 1929, p. 493).
- Mlle GUIZ. — Contribution à l'étude du mécanisme d'action des diurétiques puriques et mercuriels (Doctorat en Pharmacie, Paris, 1936).
- HAGEDORN et JENSEN. — Zur Microbestimmung des Blutzuckers mittels ferricyanid (Bioch. Zeits., 135, 1923, p. 46).
- HAMBURGER. — Osmotischer Druck und Ionenlehre in den Med. Wissenschaften 3 vol. Beigmann, Wiesbaden 1902).
- Recherches sur l'équilibre osmotique chimique entre le liquide des globules sanguins et le sérum (Arch. Neer. de Phys., t. 2, 1918, p. 636).
- HAMBURGER et DONDERS. — Physiol. Laborat. des Utrechtsche, (Hoogerschrle, 3, 9).
- HOBER. — Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe (W. Engelmann Leipzig 1906).
- F. JOLYET. — Sur quelques conditions de l'adaptation des mammifères cétacés à la vie constante aquatique (C. R. Soc. Biol., 54, 1902, p. 293).
- KEYS A. et TAYLOR H. — The determination of the colloidal osmotic pressure in blood serum and similar fluids (J. of Biol. Chem., 109, 1935, p. 47).
- KORANYI. — Zur diagnostischen Bedeutung einiger pathologischer Eigenschaften des Blutes und des Harnes. (Mai 1896).
- LAUDAT M. — Dosage du chlore dans le sang (Journ. pharm. Chim., 16, 1917, p. 38).
- LÉVY Max. — Le dosage du chlore dans le sérum sanguin et les globules rouges (Bull. Soc. Chim. Biol., XI, 1929, p. 633).
- NOLF (Dr. P.) — Technique de la cryoscopie du sang (Acad. roy. de Belg. Bull. de la Cl. des Sc., 1901, p. 709).
- PATELLA, Prof. Vincenzo. — I. Il punto di congelazione del sangue in rapporto al suo contenuto in anidride carbonica ed in acqua ; II. Il punto di congelazione del sangue nella pneumonite, tifo, etc... (Rivista Veneta di Scienze Mediche. Venezia, XXXVI, 1902, pp. 145, 202, 259).

PFEFFER. — Osmotische Untersuchungen (Leipzig, 1877).

PORTIER P. — Détermination de la pression osmotique du sang et des liquides internes des vertébrés des contrées polaires arctiques (C. R. Soc. Biol., 62, 1907, p. 627).

PORTIER P. et DUVAL M. — Variat. de la pression osmotique du sang des poissons téléostéens d'eau douce sous l'influence de l'accroissement de salinité de l'eau ambiante (C. R. Ac. Sc., 174, 1922, p. 1.366).

— Variation de la pression osmotique du sang de l'anguille en fonction des modifications de salinité du milieu extérieur (C. R. Acad. Sc., 175, 1922, p. 324).

RAOULT. — Les enseignements chimiques de la cryoscopie et de la fonométrie (Rev. Scient. Paris, 45, XIV, 1900, pp. 225, 232).

RODIER E. — Observation et expériences comparatives sur l'eau de mer, le sang et les liquides internes des animaux marins (Trav. du Labo. de la Stat. Zool. d'Arcachon, 1899, p. 103; C. R. Ac. Sc., 1, 1900, p. 1.008).

SABBATANI. — Sur le point de congélation des tissus hachés (Archives italiennes de Biologie, t. 36, 1901, p. 440).

URBAIN Ach. et CAHEN R. — Teneur en dérivés de dégradation de l'azote du sérum de quelques ongulés (C. R. Ac. Sc., 203, 1936, p. 343).

— Teneur en composés protidiques du sérum de quelques ongulés (C. R. Ac. Sc., 203, 1936, p. 277).

URBAIN Ach., CAHEN R. et PASQUIER M. A. — Teneur en glutathion réduit du sang de quelques ongulés (C. R. Soc. Biol., CXXII, 1936, p. 1.210).

— Teneur en cholestérol du sérum de quelques mammifères (C. R. Soc. Biol., CXXVII, 1938, p. 475).

URBAIN Ach., CAHEN R., PASQUIER M. A. et SERVIER J. — Teneur en chlore du sérum de quelques mammifères sauvages et domestiques (C. R. Soc. Biol., CXXVIII, 1938, p. 144).

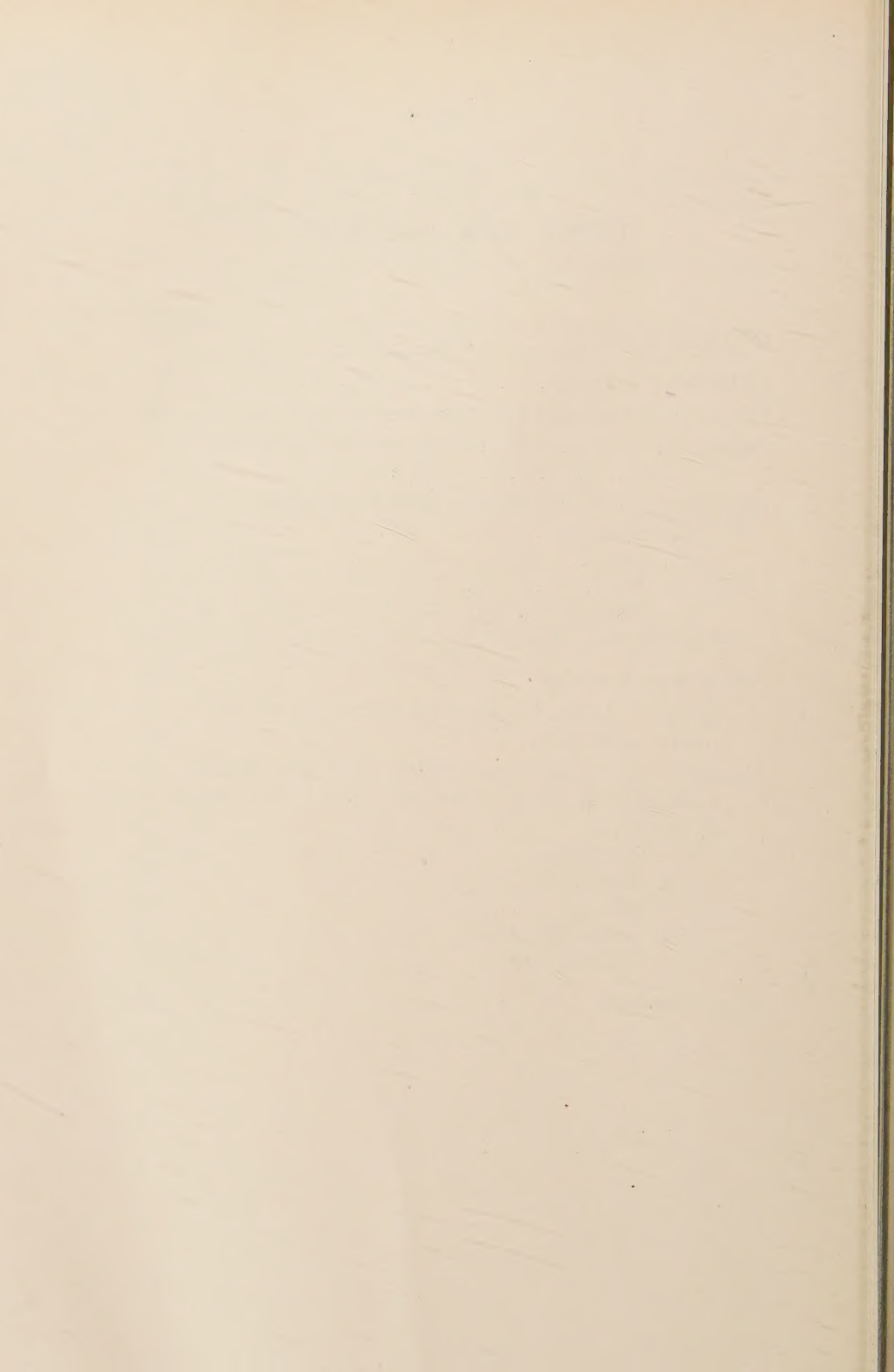
URBAIN Ach., CAHEN R. et SERVIER J. — Point cryoscopique du sérum de divers mammifères (C. R. Ac. Sc., 206, 1938, p. 1.596).

VAILLE C. et HAUTEVILLE P. — Dosage du chlore sanguin (Journ. Pharm. et Chim., XXII, 1933, p. 61).

- VIOLA G. — Ricerche electrochimiche et crioscopiche sopra alcuni
sieri umani normali et pathologica (Rivist. medic. di Scienze
mediche, 18, 1901, p. 68).
- VRIES, DE. — Arch. Neerl. 1871, VI ; fahrb. f. wtss. Bot. 1884, XV;
Bot. Zeit. 1888-89.
- WIDMARK E.P.M. — Notizen über den osmotischer Druck der
Haemolymph einiger Wasserkafer (Zeitsch. f. allg. physiol.
Bd., 10, 1910, p. 431).
- WINTER J. — Equilibre moléculaire des humeurs ; Étude de la
concentration des urines, ses limites (Arch. de Phys. norm.
et path., V série, t. 8, 28^e année, 1896, p. 524).
— De la concentration moléculaire des liquides de l'organisme
(Arch. de Physiologie norm. et path., V série, t. 8, 28^e année,
1896, p. 114).
— De l'équilibre moléculaire des humeurs (Arch. de Phys.
norm. et pathol., V série, 28^e année, 1896, p. 287).
— Du rôle des chlorures et des plasmas dans l'organisme
(C. R. Soc. Biol., 48, 1896, p. 692).
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	9
PREMIÈRE PARTIE	13
Chapitre I. — Étude des conditions de prélèvement du sang	14
Chapitre II. — Obtention et conservation du sérum destiné à l'analyse	17
Chapitre III. — Techniques utilisées dans la recherche	19
§ 1. Cryoscopie	19
§ 2. Chlore	30
§ 3. Urée	31
§ 4. Sucres Réducteurs	32
§ 5. Teneur en eau	35
DEUXIÈME PARTIE	37
Chapitre I. — Aperçu historique des travaux sur la concen- tration moléculaire	39
Chapitre II. — Étude expérimentale de la concentration moléculaire et de la teneur en divers constituants du sérum	47
§ 1. Cryoscopie	47
§ 2. Chlore	60
§ 3. Urée	64
§ 4. Sucres Réducteurs	68
§ 5. Teneur en eau	71
CONCLUSIONS	73



IMPRIMERIE L. DANIEL
PARIS-LILLE
